

**96 Stunden Konservierung von Hundenieren durch
hypotherme maschinelle Dauerperfusion**

Heinrich Peter Pitschi

1975

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. G. Heberer)

96 Stunden Konservierung von Hundenieren durch
hypotherme maschinelle Dauerperfusion

Inaugural - Dissertation
zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität in München



vorgelegt von
Heinrich Peter Pitschi
aus
Schwabhausen bei Dachau

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr. Pichlmaier
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Heberer
Dekan:	Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.12.1975



Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1. Die Bedeutung der Erziehung	2
2. Die Aufgaben der Erziehung	3
3. Die Methoden der Erziehung	4
4. Die Ergebnisse der Erziehung	5
5. Die Bedeutung der Erziehung für die Gesellschaft	6
6. Die Aufgaben der Erziehung für die Zukunft	7

2. Die Erziehung der Kinder

2.1 Die Erziehung der Kinder im Alter von 0 bis 3 Jahren	8
2.2 Die Erziehung der Kinder im Alter von 3 bis 6 Jahren	9
2.3 Die Erziehung der Kinder im Alter von 6 bis 12 Jahren	10
2.4 Die Erziehung der Kinder im Alter von 12 bis 18 Jahren	11
2.5 Die Erziehung der Kinder im Alter von 18 bis 25 Jahren	12
2.6 Die Erziehung der Kinder im Alter von 25 bis 35 Jahren	13
2.7 Die Erziehung der Kinder im Alter von 35 bis 45 Jahren	14
2.8 Die Erziehung der Kinder im Alter von 45 bis 55 Jahren	15
2.9 Die Erziehung der Kinder im Alter von 55 bis 65 Jahren	16
2.10 Die Erziehung der Kinder im Alter von 65 bis 75 Jahren	17
2.11 Die Erziehung der Kinder im Alter von 75 bis 85 Jahren	18
2.12 Die Erziehung der Kinder im Alter von 85 bis 95 Jahren	19
2.13 Die Erziehung der Kinder im Alter von 95 bis 100 Jahren	20

Meinen Eltern

3. Die Erziehung der Jugendlichen	21
3.1 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 12 bis 18 Jahren	22
3.2 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 18 bis 25 Jahren	23
3.3 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 25 bis 35 Jahren	24
3.4 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 35 bis 45 Jahren	25
3.5 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 45 bis 55 Jahren	26
3.6 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 55 bis 65 Jahren	27
3.7 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 65 bis 75 Jahren	28
3.8 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 75 bis 85 Jahren	29
3.9 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 85 bis 95 Jahren	30
3.10 Die Erziehung der Jugendlichen im Alter von 95 bis 100 Jahren	31

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Einleitung

Nierentransplantation - Dauerdialyse	1
Aufgaben der Nierenkonservierung	1
Möglichkeiten der Konservierung von Leichennieren .	1
Prinzip der maschinellen Dauerperfusion	2
Perfusionsflüssigkeiten	2
Verlängerung der Konservierungszeiten durch	
Zufügung von Substrat	3
Entfernung von Schlacken	4

Material und Methodik

Konservierungseinheit	6
Aufbereitung des Perfusates	
Hundeplasma	7
Albumin-Lösung	9
Perfusataustausch	10
Nephrektomie	
Vorbereitung und Narkose	10
Operationstechnik	11
Perfusionsverhalten	12
Nierentransplantation	
Vorbereitung	13
Operationstechnik	13
Eichung des Perfusators	14
Funktionsuntersuchung	14

Versuchsgruppen

Ergebnisse (Perfusions- und Funktionsdaten)

Gruppe I	17
Gruppe II	17
Gruppe III	18
Gruppe IV	18
Gruppe V	19

Diskussion

A) Fragestellungen und Ergebnisse	20
B) <u>I) Lactat/Pyruvat-Quotient als Indikator</u>	
<u>zum Perfusataustausch</u>	
biochemische Vorbemerkung ..	20
Anstieg des Quotienten durch	
Mangel an Sauerstoff	22
Blockierung von oxydativen Stoffwechselvor-	
gängen:	
toxische Metabolite	22
exogene Toxine	23
Substratmangel	23
<u>II) Einfacher und mehrfacher Perfusataustausch</u>	
Hypothermie	24
Durchströmung mit zellfreiem Medium	27
niederer Perfusionsdruck	27
Isolierung von Lymph- und Nervenbahnen	28
<u>III) Vergleich Perfusataustausch - Perfusatver-</u>	
<u>doppelung</u>	
Vergleich ausgetauschtes - frisches Perfusat .	28
Relation von Perfusatvolumen zu Organgewicht .	29
<u>IV) Perfusatzusammensetzung</u>	
Kalium-Ionen	30
Natrium-Ionen	31
Osmolalität	31
Glucocorticoide	32
Albuminpräparate	32
C) Folgerungen	34
Zusammenfassung	35
Abbildungen und Tabellen	37
Literaturverzeichnis	

In Europa erreichen jährlich 40 Patienten pro Million Einwohner das Terminalstadium einer chronischen Niereninsuffizienz. Etwa die Hälfte dieser Patienten liegt in der Altersgruppe von 20 bis 50 Jahren (23), die günstige Voraussetzungen (Lebenserwartung, Allgemeinzustand) für eine Langzeitbehandlung bietet.

Heute stehen zur Behandlung des chronischen Nierenversagens zwei Methoden zur Verfügung: die chronisch-intermittierende Hämodialyse und die Nierentransplantation. Die Anzahl der Dauerdialyseplätze ist jedoch beschränkt; außerdem fordert diese teure Behandlungsmethode vom Patienten große persönliche Belastungen. So ist die Transplantation von histokompatiblen Nieren in vielen Fällen die bevorzugte Therapie, da die Patienten nach gelungenem Eingriff beinahe beschwerdefrei leben können.

Zur Transplantation stehen in Ausnahmefällen Nieren von Lebendspendern (nahe Verwandte), in der großen Mehrzahl aber Leichennieren zur Verfügung. Diese Nieren können jedoch nur Spendern entnommen werden, die nicht zu alt sind und nicht an Infektions-, Krebs-, Gefäß- oder Nierenkrankheiten leiden. Damit ist der Kreis der Leichennierenspender überwiegend auf Verkehrstote beschränkt. Dies hat für die Transplantation der Leichenniere zur Folge, daß dem behandelnden Ärzteteam in der Notfallsituation nur wenig Zeit bleibt, einen histokompatiblen Empfänger auszuwählen, zu benachrichtigen, zur Klinik zu rufen und zur Implantation vorzubereiten. Eine gute Gewebetypisierung und Auswahl eines geeigneten Empfängers - beide sind nicht Gegenstand dieser Untersuchung - sind aber Voraussetzung einer erfolgreichen Allotransplantation: die Zeit zwischen Entnahme des Organs und Transplantation muß deshalb überbrückt werden, d.h., die Niere muß für diese Zeit konserviert werden.

Es gibt z.Zt. zwei Möglichkeiten, Leichennieren außerhalb des Organismus lebensfähig zu erhalten:

- a) Die einfache hypotherme Lagerung bei 4 °C; sie erlaubt - nach Leerspülung des Organs mit einer Elektrolytlösung - Konservierungszeiten von ca. 15 Stunden (53). Bei Anwendung von

Lösungen, deren Elektrolytmilieu dem intrazellulären Ionen-
gehalt entspricht, lassen sich sogar Konservierungszeiten
von 24 - 48 (7, 29, 38, 41), eventuell 72 Stunden (50) er-
reichen.

- b) Die maschinelle Dauerperfusion - ebenfalls unter Hypothermie -
unter Nachbildung eines künstlichen Kreislaufes (1, 2, 16, 30,
39, 61).

Die zweite Methode ist heute zur Standardmethode der Nierenkon-
servierung geworden. Technisch zwar aufwendiger als die einfache
hypotherme Lagerung, ermöglicht sie sichere Konservierungszeiten
bis zu ca. 72 Stunden und darüber hinaus eine Aussage über die
Vitalität des perfundierten Organs (3, 19, 37).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der maschinellen
Perfusion; ihr Prinzip ist folgendes (Abb. 1): unter Hypothermie
treibt eine Pumpe die Perfusionsflüssigkeit, deren Aufgabe es
ist, die Niere mit Nährstoffen und Sauerstoff zu versorgen, zum
Organ. Über einen Membranoxygenator wird das Perfusat mit Sauer-
stoff - eventuell Kohlendioxyd - angereichert.

Hypothermie wird gewählt, um eine entscheidende Reduktion des
Stoffwechsels zu erzielen: LEVY fand, daß bei einer Temperatur
von 10 °C der Sauerstoffverbrauch der Niere auf ca. 3 - 6 % des
Normwertes absinkt (36). Isologes, histokompatibles, heparini-
siertes Blut als "physiologisches" Perfusat wird nach BELZER
durch kryopräzipitiertes Plasma ersetzt (2). Plasma hat den Vor-
zug, frei von zellulären Bestandteilen zu sein; somit entfallen
Hämolyse, Serotoninfreisetzung aus zerfallenden Erythrozyten (57)
und ein Anstieg der Blutviskosität bei Hypothermie (55), die zu
einer Erhöhung des Perfusionswiderstandes führen. Das Plasma
wird kryopräzipitiert und mikrofiltriert, um zu über 30 % die
Lipoproteine, die für Mikroembolien im Nierenkapillarsystem ver-
antwortlich sein sollen (4), zu entfernen.

Die Herstellung des kryopräzipitierten Plasmas ist, wie aus dem
oben Geschilderten hervorgeht, relativ aufwendig.

Neuerdings wurden von CLAES et al. mit einer Humanalbumin-Lösung

(6) und von JOHNSON et al. mit einer Plasma-Protein-Fraktion (31) zwei andere Möglichkeiten einer einfacheren Perfusatherstellung als erfolgreich beschrieben. Ob eine Humanalbumin-Lösung dem kryopräzipitierten Plasma gleichwertig oder vorzuziehen ist, sollte hier untersucht werden.

Verschiedene Substanzen werden der Perfusionsflüssigkeit zugesetzt. Diese sollen zum einen als Energieträger wirken (unveresterte Fettsäuren (27), Glucose (1, 2, 20)), zum anderen das Säure/Basen-Gleichgewicht aufrechterhalten (Kohlendioxyd (1, 2), Bicarbonat (6, 20)), Membranen stabilisieren (Corticosteroide (43, 54, 61), Ca^{++} , Mg^{++} (2, 20), Insulin (2, 20), Chlorpromazin (49), Allopurinol (58), Chloroquin (40)), den renalen Widerstand senken (Phenoxybenzamin (49), Procain (7), Papaverin (45), Furosemid (10) und vor bakterieller Infektion schützen (Antibiotica).

Mit der maschinellen Dauerperfusion wurden bisher Konservierungszeiten von 72 Stunden beschrieben. Ziel dieser Arbeit war es, längere Konservierungszeiten zu erreichen.

Der Ausgangspunkt der Überlegungen war folgender:

Der Vorteil der maschinellen Perfusion vor der einfachen hypothermen Lagerung liegt zum einen darin, daß der Niere ständig Substrat angeboten wird, zum anderen, daß Stoffwechselendprodukte von ihr entfernt werden (Abb. 2).

Die maschinelle Perfusion ließe sich deshalb am sinnvollsten dadurch verbessern, daß man entweder dem Perfusat

- a) verbrauchtes Substrat wieder ersetzt, oder daß man
- b) Schlackenstoffe entfernt.

Zu a): Wegen des geringen Stoffwechsels (Hypothermie) ist es fragwürdig, ob Substrate überhaupt aufgebraucht werden: Glucose wird wahrscheinlich nur in sehr geringem Maße oder überhaupt nicht verwertet, da sich ihre schon anfangs hohe Konzentration im Verlauf der Perfusion nur wenig ändert (17); und selbst die Fettsäuren, die Hauptenergieträger des Nierenstoffwechsels (44), sind nach 72 Stunden Perfusionszeit noch im Perfusat vorhanden

(22, 46). In der vorliegenden Arbeit wurde der Frage nach dem Energiestoffwechsel nicht weiter nachgegangen, sondern sich mit dem Problem des Anstiegs von Stoffwechselendprodukten befaßt.

Zu b): Frühere Untersuchungen gaben Hinweise, daß Schlackenstoffe die Perfusionszeit limitieren könnten: während der Perfusion wurde fortlaufend der Lactat/Pyruvat-Quotient bestimmt. Dieser gilt als ein empfindlicher Indikator für das Redoxpotential der Zelle (28), ein hoher Quotient zeigt den anaeroben Stoffwechsel an, wie er bei der Niere normalerweise nur gering - im Mark - gefunden wird (24). Dieser Quotient stieg nach 24 Stunden Perfusionszeit an (15). Es muß also bereits zu einem Zeitpunkt, da die Niere noch wenig geschädigt ist (wie die hohe Sofortfunktion nach Transplantation von 24 Stunden perfundierten Nieren beweist), eine Änderung des Redoxpotentials im Cytoplasma der Nierenzelle vor sich gehen. Dies könnte auf einer Ansammlung toxisch wirkender Metabolite im Perfusat beruhen. Sollten toxische Stoffwechselendprodukte der limitierende Faktor sein, dann müßten längere Konservierungszeiten entweder durch Entfernung dieser Metabolite aus dem Perfusat oder durch Verringerung ihrer Konzentrationen auf nicht toxische Werte möglich sein. Metabolite lassen sich durch einen Austausch des Perfusates entfernen, ihre Konzentrationen durch Verwendung größerer Perfusatvolumina als üblicherweise beschrieben (800 - 1200 ml) (2) verringern.

Die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit lauten also:

- 1) Kann man a) durch einen Perfusataustausch vor Anstieg des Lactat/Pyruvat-Quotienten oder
b) durch Vergrößerung des Perfusatvolumens
längere Konservierungszeiten als bisher beschrieben erreichen?
- 2) Wenn ja, um wieviel kann man die Konservierungszeiten verlängern?
- 3) Welche der beiden Methoden ist vorzuziehen?

Zusätzlich sollte geklärt werden, in wieweit sich Hundeplasma durch eine Humanalbumin-Lösung als Perfusat ersetzen läßt. Hier

lauteten die Fragestellungen:

- 1) Sind beide Perfusatarten einander gleichwertig?
- 2) Was ist bei der Zusammensetzung des Perfusates zu beachten?

MATERIAL UND METHODIK

Sämtliche Versuche wurden an gesunden Bastardhunden, deren Körpergewicht 20 - 25 kg betrug, ausgeführt.

In allen Versuchsgruppen wurde nach folgendem Schema vorgegangen:

- Aufbau der sterilen Konservierungseinheit
- Aufbereitung des Perfusates
- Prämedikation, Anaesthesie, Rasur und Lagerung des Versuchstieres
- einseitige Nephrektomie
- Konservierung der Niere in der Konservierungseinheit mit Aufzeichnung eines genauen Protokolls des Perfusionsverhaltens
- kurz vor Ende der Konservierung Vorbereitung des Versuchstieres zur
- Autotransplantation der konservierten Niere an die Halsgefäße und gleichzeitigen kontralateralen Nephrektomie
- Prüfung der Sofortfunktion der transplantierten Niere im akuten Experiment
- Prüfung der Nierenfunktion über eine Woche bei Verlaufsuntersuchungen

Konservierungseinheit

Als Organkonservierungsgerät wurde der von BELZER entwickelte und von der Firma Life Corporation hergestellte Perfusator LI 400 verwendet. Seine Funktionsweise soll kurz geschildert werden: Eine Quetschpumpe, deren Frequenz und Schlagvolumen unabhängig voneinander reguliert werden können, treibt mittels einer Metallbacke das Perfusat aus einem Pumpenschlauchstück, das mit Kugelhäufigventilen ausgestattet ist, zum Wärmeaustauscher. Dieser besteht aus zwei ineinander liegenden Röhren (Dünnschichtwärmeaustauscher). Durch die innere Metallröhre, die außen hochglanzpoliert ist, wird das Kühlwasser gepumpt. Zwischen dieser und der äußeren Kunststoffröhre wird das Perfusat in dünner Schicht getrieben, um zum Pulsdämpfer zu gelangen. Dieser dient gleich-

zeitig als Blasenfänger, fängt die am Anfang der Perfusion auftretenden Luftblasen auf und verhindert somit Luftembolien im zu durchströmenden Organ. Der Pulsdämpfer besitzt zusätzlich einen Anschluß an ein Statham-Element, das in der gleichen Höhe wie die Niere angebracht ist. So kann der Perfusionsdruck fortlaufend registriert werden. Das Perfusat fließt von der Niere frei in die Organschale, um anschließend im venösen Reservoir aufgefangen zu werden. Dann gelangt es - der Schwerkraft folgend - über einen schwenkbaren Oxygenator, der aus zwei großen, flachen, übereinander liegenden Membrantaschen besteht, in das arterielle Reservoir. Der Membranoxygenator wird mit Zimmerluft (2,5 l/min) beschickt; zusätzliche Sauerstoff- und Kohlendioxidanreicherung - wie von BELZER beschrieben (2) - erfolgte nicht. Im Perfusat betrugen die Sauerstoffpartialdrucke 130 - 140 mmHg, der pH-Wert lag zwischen 7,0 und 7,4. Vom arteriellen Reservoir, das mit einem feinmaschigen Drahtfilter ausgestattet ist, wird das Perfusat dann wieder durch die Quetschpumpe angesaugt. Die aufgeführten Bestandteile des Konservierungsgerätes sind in der genannten Reihenfolge mit Silikonkautschukschläuchen (Silastic^R, Dow Corning) verbunden.

Die Oberflächentemperatur der Niere (ca. 8 °C) konnte laufend über ein Kontaktthermometer kontrolliert werden.

Perfusat

Als Perfusat wurde in den Gruppen I und II Hundeplasma, in den übrigen Gruppen eine Humanalbumin-Lösung verwendet.

a) Hundeplasma

Das Hundeplasma wurde aus ACD*-stabilisiertem, homologem Vollblut gewonnen. Hierzu wurden Hunde von 25 - 30 kg Körpergewicht entblutet. Diese Tiere wurden mit 0,1 ml/kg Körpergewicht Thalamonal^R (= 0,25 mg Dehydrobenzperidol + 0,005 mg Fentanyl-Base) und 1,5 mg/kg Körpergewicht Valium^R (Diazepam) sediert. In Lokalanästhesie (Procain) wurde durch einen kleinen Hautschnitt

* Acidum citricum/Dextrose

die Arteria femoralis nahe der Leistenbeuge freigelegt. In die Arterie wurde ein Katheter eingebunden. Das Blut wurde im sterilen Vakuumbutel, der ACD enthielt, gesammelt. In der Blutbank wurde daraus Plasma aufbereitet. Das Plasma wurde eingefroren und bei -20°C gelagert.

Etwa 24 Stunden vor Versuchsbeginn wurde das gefrorene Plasma rasch in einem Wasserbad von $40 - 60^{\circ}\text{C}$ aufgetaut, dann für 10 min bei 4000 Umdrehungen/min zentrifugiert; der klare Überstand wurde abpipettiert. Dem Plasma wurden dann Aqua dest., KCl, MgSO_4 , Bicarbonat, Insulin, Prednisolon und Penicillin zugefügt. Um die ausgefallenen Lipoproteine (s.u.) zu entfernen und eine Keimfreiheit zu erzielen, folgte ein stufenweises Filtern im sterilen Filtersystem unter $0,5 - 1,5$ atm Überdruck. Das Filtersystem bestand aus einem Vorfilter und drei hintereinandergeschalteten Cellulose-Acetatfiltern (Millipore) der Porengröße $1,22\ \mu$, $0,45\ \mu$ und $0,22\ \mu$.

Wie schon in der Einleitung angedeutet, fallen nach BELZER durch das rasche Auftauen die hochmolekularen Lipoproteine, die für Mikroembolien im Nierenkapillarnetz verantwortlich sein sollen, zu über 30 % aus (Kryopräzipitation). Durch Zentrifugation und Mikrofiltration können die gefällten Lipoproteine dann aus dem Plasma entfernt werden. Abb. 3 zeigt im Vergleich kryopräzipitiertes unfiltriertes Plasma (a) und filtrierte Plasma (b). Ein deutlicher Farbunterschied, bedingt durch die Trübung mit ausgefallenen Lipoproteinen ist bei (a) zu beobachten.

Beim Auftauen muß darauf geachtet werden, daß - wegen der Gefahr der Denaturierung von Proteinen - die Temperatur des Plasmas 25°C nicht überschreitet: bei Erwärmung über 25°C steigen die LDH*-Konzentrationen im Perfusat (normaler Ausgangswert: $35\ \text{mU/ml}$) stark an - bis auf $600\ \text{mU/ml}$.

Das so hergestellte Hundeplasma-Perfusat wies die umseitig angegebenen Konzentrationen auf:

* LDH = Lactat-Dehydrogenase

Na ⁺	128 - 142	mval/l	Osmolalität	312 - 338	mosm/kg
K ⁺	12,0 - 13,7	mval/l	pH	7,00 - 7,45	
Mg ⁺⁺	5	mval/l	Insulin	80	I.E./l
Glucose	800 - 1200	mg%	Prednisolon	120	mg/l
Eiweiß	3,6 - 5,7	g%	Totocillin ^R	1,5	g/l

b) Humanalbumin-Lösung

Die Humanalbumin-Lösung wurde entsprechend dem Vorschlag von CLAES et al. angesetzt (6). Sie wurde nur leicht verändert, um den onkotischen Druck, die Osmolalität und die Kaliumkonzentration zu erhöhen.

Dabei hatte es sich in Vorversuchen überraschend gezeigt, daß das von CLAES angegebene Ansatzschema für die Humanalbumin-Präparate der verschiedenen Hersteller nicht in gleicher Weise geeignet ist, da sich diese in ihrer Zusammensetzung z.T. beträchtlich unterscheiden (Tab. 1). Das Ansatzschema mußte vielmehr je nach Präparat verändert werden, das Ansatzschema für die Herstellung des Perfusates bei Verwendung zweier verschiedener Präparate ist im Folgenden wiedergegeben:

Herstellung von 1200 ml Humanalbumin-Lösung

	Kabi ^R	Immuno ^R
Humanalbumin 20 %	450 ml	450 ml
NaCl 0,9 %	750 ml	750 ml
Glucose 50 %	15 ml	15 ml
Glucose 5 %	-	60 ml
Bicarbonat 4 %	10 ml	8 ml
MgSO ₄ 20 %	3 ml	3 ml
KCl 20 %	6 ml	7,5 ml
Totocillin ^R	1,5 g	1,5 g
Prednisolon	150 mg	150 mg
Insulin	120 I.E.	120 I.E.

Die so aufbereiteten Humanalbumin-Lösungen wiesen die folgenden

Konzentrationen auf:

Na ⁺	128 - 146	mval/l	Osmolalität	322 - 340	mosm/kg
K ⁺	12,0 - 13,4	mval/l	pH	7,00 - 7,35	
Mg ⁺⁺	5	mval/l	Insulin	100	I.E./l
Glucose	560 - 680	mg%	Prednisolon	115	mg/l
Eiweiß	5,7 - 6,5	g%	Totocillin ^R	1,15	g/l

Etwa eine Stunde vor Nephrektomiebeginn wurden die Quetschpumpe, die Kühlung und der Oxygenator des Perfusators eingeschaltet. In die Organschale wurde langsam das Perfusat gegossen und so der Kreislauf gefüllt. Kleine Luftblasen an den Wänden des Kreislaufes wurden durch leichtes Antippen gelöst. Die Luft, die sich im Blasenfänger ansammelte, wurde durch einen Hahn abgelassen, so daß der ganze Kreislauf blasenfrei war.

Perfusataustausch

In drei Versuchsgruppen wurde das Perfusat ausgetauscht (s.u.). Zum Austausch wurde der Schlauch, der vom Pulsdämpfer zur Niere führt, abgeklemmt, das System durch einen zweiten Anschluß des Pulsdämpfers leergepumpt und über eine zweite Organschale das venöse Reservoir und damit nach und nach das ganze System mit frischem Perfusat aufgefüllt (Abb. 1). Der ganze Vorgang des Austausches mit der Entfernung von Luftblasen aus dem Kreislauf nahm etwa 10 min in Anspruch. In dieser Zeit erwärmte sich die Niere an ihrer Oberfläche - jetzt nicht perfundiert - um ca. 1 °C.

Nephrektomie

Etwa eine Woche vor Versuchsbeginn wurden die Tiere aktiv gegen Staupe, Hepatitis und Leptospirose (Candur SHL Serum^R) geimpft. Die Tiere hatten freien Zugang zum Futter bis etwa 24 Stunden, zu Wasser bis etwa 12 Stunden vor Versuchsbeginn.

Als Prämedikation erhielten sie 0,1 ml/kg Körpergewicht Thalamonal^R (= 0,25 mg Dehydrobenzperidol + 0,005 mg Fentanyl-Base)

und 1,5 mg/kg Körpergewicht Valium^R (Diazepam) i.m.. Im Anschluß an die sorgfältige Rasur des Operationsfeldes (Bauch, Rippenbögen, Leisten) wurde 0,0005 mg Atropinsulfat s.c. injiziert, ein Venenkatheter gelegt und die Narkose mit 5 - 10 mg/kg Körpergewicht Nembutal^R (Pentobarbital-Natrium) eingeleitet. Die Tiere wurden intubiert, in Rückenlage auf dem OP-Tisch gelagert, im Operationsgebiet gewaschen, jodiert, an ein Narkosegerät (Drägerwerk^R, Lübeck) angeschlossen, schließlich mit 10 mg Lysthenon^R (Succinyldicholin) relaxiert und im Wechseldruck mit einem Pulmomaten beatmet. Ein Gasgemisch aus Lachgas und Sauerstoff im Verhältnis 1 : 1 bis 3 : 1 sorgte für die Aufrechterhaltung der Narkose. Manchmal war es nötig, im Verlauf der Operation noch geringe Mengen Nembutal^R zu injizieren.

Von einem Mittelschnitt aus wurde das Abdomen eröffnet. Die leichter zugängliche linke Niere wurde zuerst teils stumpf, teils scharf freipräpariert. Vorausgesetzt, diese Niere hatte nur eine Nierenarterie und sah makroskopisch einwandfrei aus, wurde sie in der unten beschriebenen Weise zur Konservierung entnommen. Hatte die linke Niere jedoch zwei Nierenarterien, wurde auch die rechte untersucht, ob sie sich für den Versuch eignete.

Nach Freipräparation der Niere wurde zuerst der Ureter durchtrennt, es wurde gewartet, bis sich der durch die Freipräparation verursachte Vasospasmus der Niere nach 1 - 2 min wieder löste und die Niere Urin produzierte (61). Bis zu diesem Zeitpunkt waren dem Hund bereits je 500 ml 0,9%ige Kochsalz und 5%ige Laevulose-Lösung infundiert worden. Jetzt wurden Arterie und Vene möglichst nahe der Aorta abdominalis, bzw. der Vena cava inferior, abgeklemmt, durchtrennt und die Niere mit langem Gefäßstiel entnommen.

In die Arterie wurde sofort ein Teflonkatheter passender Größe mit Zwirn (Stärke 25) eingebunden. Durch diesen Konnektor wurde die Niere mit 500 ml 4 °C kalter Ringer-Mannit-Lösung, der Procain (200 mg auf 500 ml), Bicarbonat (7,5 ml einer 4%igen Lösung auf 500 ml) und Heparin (5000 I.E. auf 500 ml) zugesetzt waren,

blutleer gespült. Anschließend wurde die Niere mit einer Federwaage gewogen und dann an das Konservierungsgerät angeschlossen. Die Pulsfrequenz der Quetschpumpe wurde auf 60 - 70 Schläge/min eingestellt, das Schlagvolumen wurde so einreguliert, daß der Perfusionsdruck 60 mmHg systolisch zu 30 mmHg diastolisch (Mitteldruck ca. 40 mmHg) betrug. Der Mitteldruck fiel im Verlauf der ersten Stunden der Perfusion regelmäßig auf 30 mmHg ab. Sank er noch tiefer, wurde er durch eine Vergrößerung des Schlagvolumens wieder auf Werte um 30 mmHg erhöht.

Zur Beendigung der Operation wurden nun Arterien- und Venenstumpf mit Zwirn (Stärke 25) abgebunden und die Bauchdecke mit Mersilene (Stärke 0) verschlossen: Peritoneum fortlaufend, Fascie, Subcutangewebe und Haut in Einzelknopfnähten. Es wurde nochmals jodiert und Nobecutan^R auf die Wunde gesprüht. Da fast alle so versorgten Wunden - zumindest bis auf kleine Abschnitte - per primam verheilten, wurde auf einen zusätzlichen Wundverband verzichtet. Zurückgebracht in ihre Ställe, hatten die Tiere sofort freien Zugang zu Wasser.

Nierenperfusion

Während der Organkonservierung wurde der Perfusionsdruck (bei gleichbleibender Durchströmungsrate ein Maß für den renalen Widerstand) über einen Schreiber (Servogor^R, Firma Metrawatt) bestimmt. Zweimal täglich wurden ca. 10 ml Perfusat entnommen, um im Labor die nachfolgenden Bestimmungen durchzuführen:

LDH (Lactat-Dehydrogenase): Methode nach (62)

GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase): Methode nach (38)

Lactat: Methode nach (26)

Pyruvat: Methode nach (8)

pH: Präzisions-pH-Meter, Knick

Am Anfang und Ende der Perfusion wurden im Perfusat noch folgende Parameter bestimmt:

Glucose: GOD-Methode nach (52)

Gesamteiweiß: Biuret-Methode nach (13)

Natrium und Kalium: Flammenphotometer

Osmolalität: Halbmikro-Osmometer, Knauer

Der arterielle Sauerstoffpartialdruck wurde zweimal während der Perfusion gemessen (Astrup-Radiometer^R, Kopenhagen)

Bei einem Druckanstieg wurde sofort die LDH-Konzentration im Perfusat bestimmt.

Nierentransplantation

War den Hunden die linke Niere entnommen worden, wurde - nach Prämedikation und Narkoseeinleitung - die rechte Halsseite und Flanke rasiert. Die Hunde wurden auf die linke Seite auf dem OP-Tisch gelagert. In Lachgasnarkose wurden teils stumpf, teils scharf die Vena jugularis externa und die Arteria carotis communis durch einen seitlichen Halsschnitt dargestellt. Diese Gefäße wurden möglichst weit proximal mit Dieffenbachklemmen abgesetzt und möglichst weit distal nach Ligatur (Zwirn 25) durchtrennt. Die Gefäßstümpfe wurden mit Heparin-Kochsalz-Lösung blutleer gespült und vom Bindegewebe befreit.

Jetzt wurde die konservierte Niere aus dem System entnommen, gewogen, über den Arterienkonnektor an eine 4 °C kalte Ringer-Lactat-Lösung nach Hartmann, der Procain (100 mg auf 250 ml) und Bicarbonat (4ml einer 4%igen Lösung auf 250 ml) zugesetzt waren, angeschlossen. Während der Venennaht wurde die Niere unter einem Druck von ca. 50 cmH₂O perfundiert, um sie nur einer kurzen warmen Ischaemiezeit auszusetzen.

In fortlaufender Naht (Mersilene 5/0) wurde die Vena renalis mit der Vena jugularis externa anastomosiert. Der Arterienkonnektor wurde entfernt und die Arteria renalis mit der Arteria carotis communis in Einzelknopfnah (Mersilene 5/0) verbunden. In etwa 20 min waren die Gefäßnähte vollendet. Bis zu diesem Zeitpunkt waren dem Hund bereits je 500 ml 0,9%ige Kochsalz und 5%ige Laevulose-Lösung, sowie kurz vor Eröffnung der Gefäße ca. 80 ml 20%iges Mannit und 40 mg Lasix^R (Furosemid), infundiert worden.

Jetzt erfolgte die Öffnung der Gefäßklemmen; bei den meisten Versuchen nahmen die Nieren sofort eine rosige Farbe an und produzierten Urin. Die kleineren Blutungen an Nierenkapsel und Hilus wurden mit Catgut-Nähten (Stärke 2/0 bis 4/0) gestillt. In den Ureter wurde ein Gummikatheter eingebunden. Anschließend wurde mit wenigen Catgut-Nähten (Stärke 1/0) eine Hauttasche gebildet, in der das Organ fixiert wurde; der knickungsfrei gelagerte Ureter wurde durch eine zusätzliche Hautöffnung ohne besondere Fixierung geleitet. Dann wurde die Wunde in Einzelknopfnah (Mersilene 0) verschlossen. Nun wurde das Tier mit Lysthenon^R relaxiert und die kontralaterale Niere in typischer Weise durch einen Rippenbogenrandschnitt entfernt. Nach Beendigung von Transplantation und kontralateraler Nephrektomie erfolgte die Eichung des Perfusators: die Temperatur des Perfusates wurde an der Stelle, an der die Niere im System angeschlossen war, gemessen. Mit einer Schraubklemme wurde der Perfusionsdruck simuliert und der genaue Perfusatfluß ermittelt, der dann auf das Nierengewicht bezogen wurde (Durchströmungsrate in ml/min x g Nierengewicht). Aus dem Quotienten Perfusionsdruck zu Durchströmungsrate wurde der renale Widerstand errechnet

$$(\text{Widerstand} = \frac{\text{Druck}}{\text{Fluß}}).$$

Funktionsuntersuchungen

Zur Prüfung der Sofortfunktion wurden die Tiere nach Transplantation in flacher Lachgasnarkose gehalten. Bei guter Ausscheidung wurde die Funktion mindestens über vier Stunden, sonst bis zu sechs Stunden überwacht.

Als Maß für die Sofortfunktion wurden die PAH (= Paraaminohipursäure)- und Inulin-Clearancen bestimmt. Hierzu wurden die Plasma (P)- und die Urin (U)- Konzentrationen von PAH (Methode nach (34)) und Inulin (Methode nach (12)) gemessen und die Clearancen (C) nach der folgenden Formel berechnet:

$$C = \frac{U}{P} \times \text{HMV} .$$

HMV = Harnminutenvolumen

Es wurden in ca. 15 min 60 ml einer Stammlösung (die Stammlösung enthielt in 500 ml 0,9%iger Kochsalzlösung 2 g PAH und 5 g Inulin) im Nebenschluß infundiert. Nach 30 min. konnte eine gleichmäßige Verteilung von PAH und Inulin im Extrazellulärraum erwartet werden.

Jetzt wurde die erste Clearance durchgeführt. Hierzu wurden 10 ml Urin der transplantierten Niere im Reagenzglas gesammelt; die hierfür benötigte Zeit wurde zur Berechnung des Harnminutenvolumens gemessen. In der Mitte der Sammelperiode wurde dem Tier zur Bestimmung der Plasmakonzentrationen von PAH und Inulin venöses Blut abgenommen.

30 min nach der ersten Sammelperiode folgte die Durchführung einer zweiten Clearance.

Anschließend wurden je nach Ausscheidung erneut 0 - 20 ml der PAH/Inulin-Lösung infundiert; wieder nach 30 min wurde dann eine dritte Clearance durchgeführt.

Frühestens vier Stunden nach Transplantation wurde schließlich eine vierte Clearance begonnen.

Zur Auswertung gelangten nur die Proben, die eine Plasmakonzentration von 1,8 - 2,5 mg% PAH und 15 - 25 mg% Inulin aufwiesen. Dies war in der Regel in mindestens zwei, oft in allen vier Proben der Fall. Für die Berechnung der Funktion einer Niere wurde für diese Proben die jeweilige Clearance bestimmt; der Mittelwert der Clearance-Werte eines Versuches gibt die Sofortfunktion der Niere in den ersten sechs Stunden wieder.

Handelte es sich um Versuche, bei denen die Nierenfunktion nach Transplantation über mindestens eine Woche verfolgt werden sollte, wurden die Tiere in die Ställe zurückgebracht. Dort hatten sie sofort freien Zugang zu Wasser. Der weitere Verlauf ihrer Nierenfunktion wurde durch Kontrolle des Serumcreatininspiegels (Creatinin: Methode nach (51)) bestimmt.

Die Versuche wurden in folgende Gruppen aufgeteilt:

Gruppe I: n = 6

Perfusionszeit 96 Stunden
Perfusat Hundeplasma
Perfusatvolumen 1200 ml
Perfusataustausch nach 24 Stunden

Gruppe II: n = 3

Perfusionszeit 120 Stunden
Perfusat Hundeplasma
Perfusatvolumen 1200 ml
Perfusataustausch nach 24 und nach 48 Stunden

Gruppe III: n = 4

Perfusionszeit 96 Stunden
Perfusat Albumin-Lösung
Perfusatvolumen 1200 ml
Perfusataustausch nach 24 Stunden

Gruppe IV: n = 6

Perfusionszeit 96 Stunden
Perfusat Albumin-Lösung
Perfusatvolumen 2400 ml
Kein Perfusataustausch; Einbau eines teflonbeschichteten Topfes
vor die Quetschpumpe zur Aufnahme des vergrößerten Volumens

Gruppe V: n = 3 (Kontrollgruppe)

Perfusionszeit 96 Stunden
Perfusat Albumin-Lösung
Perfusatvolumen 1200 ml
Kein Perfusataustausch

Von den Einzelwerten jeder Gruppe wurden die arithmetischen Mittelwerte mit den Standardabweichungen ($\pm$) gebildet.

ERGEBNISSE

Perfusionsdaten: Elektrolyte, Osmolalität, Glucose, Eiweiß, Lactat, Pyruvat und Lactat/Pyruvat-Quotient im Perfusat s. Tab. 3, 4, 5 und Abb. 4, 5.

Funktionsdaten: PAH- und Inulin-Clearance (Sofortfunktion) und Serumcreatinin eine Woche nach Transplantation s. Tab. 6.

Gruppe I:

Perfusionsdaten (Tab. 2, Abb. 7): Der Perfusionsdruck lag zu Beginn der Perfusion im Mittel bei $36,5 \pm 6,4$ mmHg, am Ende der Perfusion bei $30,2 \pm 5,8$ mmHg.

Enzymausschüttung (Mittelwerte):

LDH: Anfangswert 40 ± 5 mU/ml, Endwert 259 ± 70 mU/ml

GOT: Anfangswert $5,8 \pm 2$ mU/ml, Endwert 19 ± 6 mU/ml

Das Nierengewicht nahm im Mittel um 12 ± 8 % zu, die Durchströmungsrate/Nierengewicht betrug $1,32 \pm 0,27$ ml/min·g, der renale Widerstand betrug am Ende der Perfusion $23,8 \pm 7,2$ mmHg·min·g/ml.

Funktionsdaten (Tab. 6): Alle Nieren dieser Gruppe nahmen nach 96 Stunden Perfusionszeit ihre Funktion auf. Die PAH-Clearance betrug im Mittel $70,2 \pm 32,2$ ml/min, die Inulin-Clearance $43,9 \pm 29,2$ ml/min. Die Serumcreatininwerte von vier Hunden, deren Nierenfunktion über eine Woche verfolgt wurde, lagen bei $1,7 \pm 0,4$ mg% am 7. postoperativen Tag.

GruppeII:

Perfusionsdaten (Tab. 2, Abb. 6): Der Perfusionsdruck lag zu Beginn der Perfusion im Mittel bei $37,3 \pm 3,0$ mmHg, am Ende der Perfusion bei $45,3 \pm 6,2$ mmHg.

Enzymausschüttung (Mittelwerte)

LDH: Anfangswert 21 ± 10 mU/ml, Endwert 2870 ± 4440 mU/ml

GOT: Anfangswert 3 ± 1 mU/ml, Endwert 22 ± 5 mU/ml

Das Nierengewicht nahm im Mittel um $12 \pm 8 \%$ zu, die Durchströmungsrate/Nierengewicht betrug $1,26 \pm 0,30$ ml/min·g, der renale Widerstand betrug am Ende der Perfusion $37,4 \pm 14,5$ mmHg·min·g/ml.

Funktionsdaten: Bei Öffnung der Gefäßklemmen nach Transplantation nahmen alle drei Nieren eine dunkel-livide Farbe an; sie produzierten keinen Urin.

Gruppe III:

Perfusionsdaten (Tab. 2, Abb. 7): Der Perfusionsdruck lag zu Beginn der Perfusion im Mittel bei $39,5 \pm 3,3$ mmHg, am Ende der Perfusion bei $29,8 \pm 2,4$ mmHg.

Enzymausschüttung (Mittelwerte):

LDH: Anfangswert 31 ± 9 mU/ml, Endwert 227 ± 75 mU/ml

GOT: Anfangswert $4 \pm 1,6$ mU/ml, Endwert $17 \pm 3,3$ mU/ml

Das Nierengewicht nahm im Mittel um $9 \pm 5 \%$ zu, die Durchströmungsrate/Nierengewicht betrug $1,28 \pm 0,05$ ml/min·g, der renale Widerstand betrug am Ende der Perfusion $23,3 \pm 1,5$ mmHg·min·g/ml.

Funktionsdaten (Tab. 6): Die Nieren dieser Gruppe nahmen nach Transplantation eine rosige Farbe an und produzierten Urin. Die PAH-Clearance betrug im Mittel $64,0 \pm 8,9$ ml/min, die Inulin-Clearance $39,3 \pm 6,1$ ml/min. Wegen der guten Sofortfunktion wurde auf die Bestimmung des Serumcreatininverlaufes über eine Woche verzichtet.

Gruppe IV:

Perfusionsdaten (Tab. 2, Abb. 8): Der Perfusionsdruck lag zu Beginn der Perfusion im Mittel bei $42,7 \pm 3,1$ mmHg, am Ende der Perfusion bei $30,8 \pm 2,3$ mmHg.

Enzymausschüttung (Mittelwerte):

LDH: Anfangswert 17 ± 6 mU/ml, Endwert 216 ± 76 mU/ml

GOT: Anfangswert $2,6 \pm 0,9$ mU/ml, Endwert 17 ± 5 mU/ml

Das Nierengewicht nahm im Mittel um $10 \pm 6 \%$ zu, die Durchströmungsrate/Nierengewicht betrug $1,27 \pm 0,28$ ml/min·g, der renale

Widerstand betrug am Ende der Perfusion $25,0 \pm 4,2$ mmHg·min·g/ml.

Funktionsdaten (Tab. 6): Ein Hund starb am 3. Tag nach der Transplantation - trotz anfänglicher geringer Urinproduktion - mit einem Serumcreatinin von 18 mg%. Die Nieren der anderen fünf Hunde zeigten eine ausreichende bis gute Funktion nach der Transplantation. Die PAH-Clearance betrug im Mittel $32,7 \pm 28,8$ ml/min, die Inulin-Clearance $9,6 \pm 4,3$ ml/min, das Serumcreatinin eine Woche nach Transplantation $2,7 \pm 0,7$ mg%.

Gruppe V:

Perfusionsdaten (Tab. 2, Abb. 8): Der Perfusionsdruck lag zu Beginn der Perfusion im Mittel bei $37,7 \pm 1,2$ mmHg, am Ende der Perfusion bei $36,7 \pm 5,7$ mmHg.

Enzymausschüttung (Mittelwerte):

LDH: Anfangswert 16 ± 5 mU/ml, Endwert 280 ± 135 mU/ml

GOT: Anfangswert $2,3 \pm 0,6$ mU/ml, Endwert 18 ± 7 mU/ml

Das Nierengewicht nahm im Mittel um 22 ± 7 % zu, die Durchströmungsrate/Nierengewicht betrug $1,35 \pm 0,21$ ml/min·g, der renale Widerstand betrug am Ende der Perfusion $27,2 \pm 2,8$ mmHg·min·g/ml.

Funktionsdaten: Zwei Nieren verfärbten sich nach Transplantation dunkel-livide; sie produzierten keinen Urin. Die dritte Niere (am Ende der Perfusion Perfusionsdruck: 32 mmHg, LDH: 143 mU/ml, GOT: 13 mU/ml) nahm nach Transplantation eine rosige Farbe an; sie produzierte jedoch keinen Urin.

DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war es, die Ergebnisse der hypothermen, maschinellen Dauerperfusion zu verbessern. Dabei sollten nicht nur längere Konservierungszeiten als die bisher beschriebenen 72 Stunden erreicht werden, die Nieren sollten auch eine ausreichende Sofortfunktion unmittelbar nach Transplantation aufweisen. Um dies kontrollieren zu können, wurde die kontralaterale Nephrektomie sofort an die Transplantation angeschlossen. Ein weiteres Ziel war es, das aufwendig herzustellende und mit Hepatitisrisiko behaftete, kryopräzipitierte Plasma als Perfusat zu ersetzen; hierzu wurde die Qualität verschiedener Albumin-Präparate überprüft.

Die Ergebnisse zeigen, daß eine erfolgreiche 96 Stunden Konservierung von Hundenieren sowohl durch einen Perfusataustausch als auch durch eine Perfusatverdoppelung auf 2400 ml möglich ist; noch längere Konservierungszeiten waren - trotz zweifachen Perfusataustausches - nicht erreichbar. Kryopräzipitiertes Hundeplasma und die Humanalbumin-Lösung eigneten sich in gleicher Weise zur Perfusion.

Im Folgenden sollen die Ergebnisse im Einzelnen besprochen werden:

I) Der Lactat/Pyruvat-Quotient als Indikator zum Perfusataustausch

Kennzeichen der anaeroben Glykolyse ist die Reduktion des Pyruvats zum Lactat. Verantwortliches Enzym für diese Reaktion ist die Lactat-Dehydrogenase mit dem Coenzymssystem $\text{NADH} + \text{H}^+ : \text{NAD}^+$ (= Nicotinamid-adenin-dinucleotid). Lactat besitzt im Stoffwechselgeschehen eine Sonderstellung, insofern, als es nicht in einen Stoffwechselweg eingebaut ist (s. Schema), sondern nur im Gleichgewicht mit Pyruvat steht. Hinzu kommt, daß das Coenzymssystem $\text{NADH} + \text{H}^+ : \text{NAD}^+$ das niedrigste Oxydationspotential der verschiedenen Redoxsysteme des Cytosols besitzt (28). D.h., Daß unter Hypoxie als Stoffwechselreaktion letztlich vermehrt Lactat

entsteht: somit stellt der Lactat/Pyruvat-Quotient ein gutes Maß für das Verhältnis von aerobem zu anaerobem Stoffwechsel dar.

Schema: Stellung des Lactats im intermediären Stoffwechsel



(vereinfacht nach KARLSON (32))

Bei der Verwendung von kryopräzipitiertem Hundeplasma als Perfusat wurde in früheren Untersuchungen (15) folgender Verlauf gefunden: nach initialem Abfall des Lactat/Pyruvat-Quotienten erfolgte nach ca. 24 Stunden Perfusionszeit ein Anstieg. Dieser Verlauf konnte in den vorliegenden Versuchen bei Verwendung einer Albumin-Lösung als Perfusat bestätigt werden (s. Abb. 5): nach anfänglicher Stabilität stieg auch hier nach ca. 24 Stunden Perfusionszeit der Lactat/Pyruvat-Quotient an, um ab der 36. Stunde Perfusionszeit bis zum Ende der Perfusion ein relativ konstantes Niveau einzunehmen.

Diese Übereinstimmung - Anstieg nach 24 Stunden Perfusionszeit - ist überraschend; der Verlauf des Lactat/Pyruvat-Quotienten ist nämlich bei Verwendung von Hundeplasma als Perfusat (hohe Lactat-Ausgangswerte) auf Veränderungen des Pyruvats, bei Verwendung von Humanalbumin-Lösung auf Veränderungen sowohl der Lactat- als auch der Pyruvat-Konzentration zurückzuführen (s. Tab. 5). Da sich die Perfusionslösungen auch in ihrer weiteren Substratzusammensetzung (Glucose, Lipide, Proteine) unterscheiden, spricht diese Übereinstimmung dafür, daß zu diesem Zeitpunkt eine Änderung im Stoffwechselgeschehen der Niere vor sich geht.

Folgende Ursachen für diese Änderung im Stoffwechselgeschehen sind zu diskutieren:

a) Sauerstoffmangel

b) Blockierung oxydativer Stoffwechselvorgänge

Zu a): Der Sauerstoffverbrauch unter Hypothermie von 8 °C entspricht in etwa 3 - 6 % des Sauerstoffverbrauchs in Normothermie (36). Bei dem hier gewählten niederen Perfusionsdruck muß darüberhinaus nur der basale Sauerstoffverbrauch gedeckt werden, der unter Normothermie 1 $\mu\text{mol/g} \times \text{min}$ beträgt (35). Es konnte gesagt werden, daß der Sauerstoffverbrauch unter Hypothermie bei maschineller Dauerperfusion tatsächlich 0,03 - 0,04 $\mu\text{mol/g} \times \text{min}$ beträgt, entsprechend 3 % des Wertes unter Normothermie. Dieser Sauerstoffverbrauch war über 72 Stunden Perfusionszeit konstant (22, 46), ein Anhalt für einen plötzlichen Sauerstoffmangel nach 24 Stunden Perfusionszeit konnte nicht gefunden werden. Dafür spricht auch, daß zum einen bei einfacher Oxygenierung mit Zimmerluft die Sauerstoffsättigung im venösen Schenkel des Perfusionsystems noch 120 mmHg beträgt, zum anderen, daß durch eine Erhöhung der Sauerstoffspannung von 140 - 400 mmHg sich das Verhältnis von Lactat zu Pyruvat nicht verändern läßt (15). Demnach ist ein plötzlicher Sauerstoffmangel nach 24 Stunden Perfusionszeit nicht als Ursache für den Anstieg des Lactat/Pyruvat-Quotienten anzusehen.

Zu b): Eine Blockierung von oxydativen Stoffwechselvorgängen könnte durch die Anhäufung von toxischen Stoffwechselendprodukten, durch die Freisetzung von toxischen Substanzen aus den Oberflächen des Perfusionsystems oder durch die Umwandlung von Perfusatbestandteilen - z.B. bedingt durch die Oberflächen des Systems - hervorgerufen werden.

Zu den Stoffwechselendprodukten, die im Perfusat ansteigen, zählt der Ammoniak (47). ABOUNA schlug den Perfusataustausch vor, um den Ammoniakspiegel im Perfusat niedrig zu halten: die mit Perfusataustausch konservierten Nieren zeigten in seinen Versuchen gegenüber einer Kontrollgruppe eine signifikant bessere Funktion (1). Die vergleichsweise schlechte Funktion seiner Kontrollgruppe dürfte allerdings in dem sehr niedrigen Perfusatvolumen (600 ml),

das zur Perfusion benützt wurde, begründet sein.

Auch GRUNDMANN et al. wiesen - bei Verwendung von Humanalbumin-Lösung als Perfusat - in jüngsten Untersuchungen steigende Konzentrationen an Ammoniak und Harnsäure nach (22).

Ein weiteres Problem ist die Freisetzung von toxischen Substanzen aus den inneren Oberflächen des Perfusionssystems. Sie erscheint bei den hier verwendeten inerten Materialien (hochglanzpoliertes Metall, Teflon, Silikonkautschuk) wenig wahrscheinlich. Hier sei an einen Vorversuch erinnert: eine Niere wurde für 96 Stunden maschinell perfundiert, anschließend wurde im Gewebe die Silikonbestimmung* durchgeführt. Die Untersuchung wurde deshalb vorgenommen, da bei Verwendung von Herz-Lungen-Maschinen eine Freisetzung von Silikon beschrieben wurde, die zu Schädigungen führte (25). In dem Rohextrakt (mechanische Zerkleinerung, Extraktion in siedendem Benzol über 15 min) dieser Niere konnte jedoch chromatographisch kein Silikon nachgewiesen werden. Bei dieser Untersuchung wurde ein interessanter Nebebefund erhoben: normalerweise werden aus 20 g Nierengewebe 200 -300 mg Benzolextrakt gewonnen; bei dieser 96 Stunden perfundierten Niere konnte aber nur 82,5 mg gewonnen werden. Dies läßt schließen, daß

- 1) vermehrt Wasser in die Zellen eingelagert war und/oder
- 2) die zellulären Lipidbausteine reduziert wurden.

Auf diesen Nebebefund wird unten nochmals eingegangen.

Die Blockierung von oxydativen Stoffwechselvorgängen könnte weiter durch das Auftreten eines endogenen Substratmangels, eventuell einer Verwertungsstörung von Substrat, begründet sein.

Der Stoffwechsel der Niere wird nach NIETH und SCHOLLMAYER in Normothermie zu knapp 2/3 von freien Fettsäuren, zu 1/3 von Lactat und einem kleinen Anteil von Citrat und Pyruvat getragen (44). In Hypothermie werden von der Niere - wie neueste Untersuchungen von PETTERSSON (46) und GRUNDMANN (22) zeigten - zwar auch freie Fettsäuren verbraucht, in wieweit diese jedoch tatsächlich den Energiebedarf decken können, muß offenbleiben (27). Ein endogener Substratmangel ist demnach nicht auszuschließen,

* Für diese Untersuchung sei Herrn Dr. R. FRICK, Pathologisches Institut der Universität Erlangen, herzlich gedankt.

allerdings dürfte er nach 24 Stunden Perfusionszeit noch keine Rolle spielen.

Aus dem Vorgesagten ergibt sich, daß zwar eine eindeutige Erklärung für die ungünstige Beeinflussung des Redoxgeschehens im perfundierten Organ nicht gegeben werden kann, daß aber ein Perfusataustausch aus zwei Gründen sinnvoll erscheint:

- 1) ein nicht erkannter Substratbedarf könnte so gedeckt werden
- 2) werden toxische Stoffwechselmetabolite, wie z.B. die oben erwähnten Ammoniak und Harnsäure, aus dem Perfusat entfernt.

II) Einfacher und mehrfacher Perfusataustausch

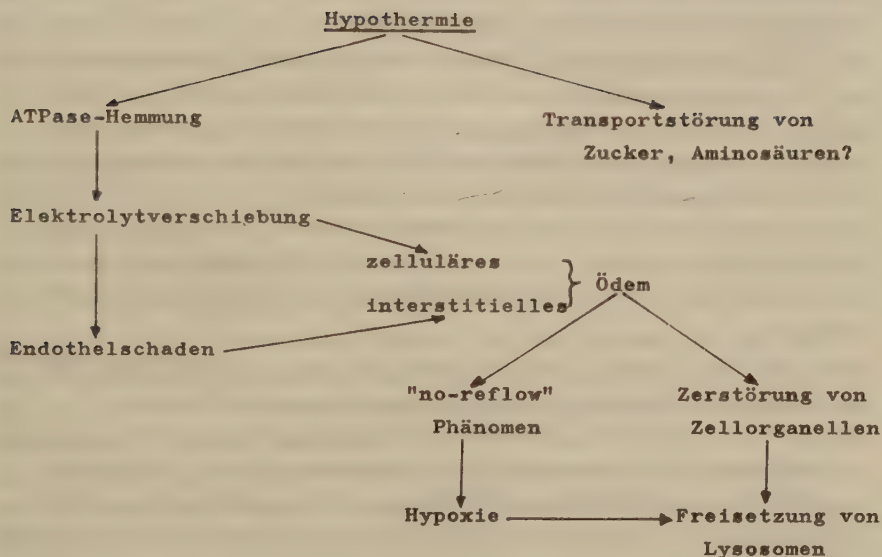
Durch Perfusataustausch nach 24 Stunden Perfusionszeit - sowohl bei Verwendung von Hundeplasma als auch von Albumin-Lösung - konnte die Konservierungszeit tatsächlich auf 96 Stunden ausgedehnt werden. Dies spricht dafür, daß toxische Abbauprodukte, eventuell auch ein Substratmangel, die Konservierungszeit beeinflussen.

Da sich aber die Konservierungszeit - trotz Perfusataustausches nach 24 und nach 48 Stunden - nicht auf 120 Stunden ausdehnen ließ, muß es noch zusätzliche limitierende Faktoren der Langzeit-Organ-konservierung geben. Hier verdient vor allem die grundsätzlich andere Situation der Niere bei Konservierung verglichen mit der Situation in vivo Erwähnung:

- 1) Hypothermie statt Normothermie
- 2) Durchströmung mit einem zellfreien Medium
- 3) Niederer Perfusionsdruck (unter dem Filtrationsdruck)
- 4) Isolierung von Lymph- und Nervenbahnen

Zu 1): Hypothermie statt Normothermie

Hypothermie ist das wichtigste Konservierungsprinzip; bei 10 °C ist der Stoffwechsel der Niere auf ca. 5 % der Norm verringert (36). Die Hypothermie birgt aber auch die Gefahr der Schädigung in sich. Zum leichteren Verständnis der komplexen Zusammenhänge der durch die Hypothermie entstehenden Schädigungen mag folgendes kleine Schema dienen:



Die Natrium-Kalium-aktivierte Adenosintriphosphatase (= Na-K-ATPase), die in Normothermie für die Aufrechterhaltung der Kationengradienten an der Zellmembran aktiv sorgt, wird durch die Kälte gehemmt (14). Dies führt dazu, daß in Hypothermie die Zellen dem Kationengradienten zufolge Natrium-Ionen, Chlorid-Ionen (zur Erhaltung des elektrischen Membranpotentials) und Wasser ("solvent drag") vermehrt aufnehmen, umgekehrt Kalium-Ionen verlieren. Dabei wird in der Summe mehr Natrium aufgenommen als Kalium verloren, es entsteht ein zelluläres Ödem. Dieses ist bis zu einem gewissen Grad voll reversibel (11, 61), kann sogar durch eine spezifische Perfusatzusammensetzung (s.u.) vermindert werden.

MARTIN et al. stellten nach 24 stündiger hypothermer (10 °C) Dauerperfusion unter identischen Bedingungen für Niere, Herz und Leber nur noch bei der Niere eine Aktivität der Na-K-ATPase fest. Da nur die Niere bei dieser Konservierungstechnik ihre Vitalität erhalten hatte, folgerten sie, daß die relative Käl-

terresistenz der Na-K-ATPase der Niere für deren gute Langzeitkonservierung verantwortlich ist (42).

Nach längeren hypothermen (10 °C) Perfusionen fanden BELZER et al. als Hauptschädigung der Nieren eine elektronenmikroskopisch deutlich erkennbare Veränderung der Endothelien; die Ursache dieser Diskrepanz zwischen Endothelzellen und Nierenparenchymzellen sahen sie in einer unterschiedlichen Kälteempfindlichkeit der Na-K-ATPase dieser beiden Strukturen. Bei vorhandenen Endothelschädigungen kann Eiweiß mit Elektrolyt-Lösung ins Interstitium eintreten; dies führt zur Bildung eines interstitiellen Ödems (5).

Bei starker Ausprägung hat das zelluläre und interstitielle Ödem schwerwiegende Folgen: die Lumina der Nierenkapillaren werden so stark eingeengt, daß zwar ein azelluläres Perfusat diese Kapillaren noch passieren kann, die Passage von Blutzellen - nach Wiederdurchströmung mit Blut - aber stark oder ganz behindert wird ("no-reflow"-Phänomen) (56). Eine erschwerte Passage des Perfusates schon während der Perfusion ist mit einem Anstieg des Perfusionsdruckes (= Anstieg des renalen Widerstandes) verbunden und als schlechtes prognostisches Zeichen zu werten (4, 17).

Die Folge dieses "no-reflow"-Phänomens ist die Ausbildung von lokalen hypoxaemischen Bezirken. Die Hypoxie führt nun ihrerseits zur Freisetzung von lysosomalen Hydrolasen (54). Die Zerstörung von Lysosomen (und anderen Zellorganellen) mit Freisetzung von Lysozymen kann aber auch bei der Ausbildung des zellulären Ödems entstehen (59).

Die Lysozyme sind dann letztlich verantwortlich für den Untergang von Zellen; durch nekrotisches Zellmaterial könnte es zur Entstehung von Mikroembolien (54), damit wiederum zu lokalen ischaemischen Bezirken, zur Freisetzung von Lysozymen und zum Zelluntergang kommen, womit ein circulus vitiosus geschlossen ist.

Neben der Hemmung der Na-K-ATPase hemmt die Hypothermie eventuell auch Enzyme, die den Transport der schlecht permeablen Substrate

des Energiestoffwechsels (z.B. Zucker, Aminosäuren) über die Zellmembran bewerkstelligen (59); damit würde durch die Hypothermie der Entstehung eines endogenen Substratmangels Vorschub geleistet.

Aus dem oben Gesagten ergibt sich, daß als Ausdruck einer Zellschädigung durch Hypothermie folgende Veränderungen zu erwarten sind:

- a) Ödembildung
- b) Enzymausschüttung
- c) K^+ -Verluste der Zelle

Zu a): Die Ödembildung kann direkt gemessen werden als Gewichtszuwachs während der Perfusion. In dieser Versuchsreihe waren Nieren mit einem Gewichtszuwachs von mehr als 20 % mit einer schlechten Prognose behaftet.

Zu b): Lysosomale Enzyme wurden hier nicht bestimmt. Indirekt zeigten aber plötzliche Anstiege der cytosomalen Enzyme (LDH und GOT) den irreversiblen Zelluntergang und damit den Verlust der Funktionstüchtigkeit der perfundierten Nieren an.

Zu c): Kalium-Verluste der Zellen konnten durch eine spezifische Perfusatzusammensetzung (s.u.) eingeschränkt werden, sie spielen aber sicher für die hypotherme, maschinelle Dauerperfusion nicht die Rolle wie bei der einfachen hypothermen Lagerung.

Zu 2): Durchströmung mit einem zellfreien Medium

Bedingt durch die Hypothermie muß Blut als physiologisches Perfusat ersetzt werden (s. Einleitung). Die Perfusatzusammensetzung wird unten diskutiert.

Zu 3): Niederer Perfusionsdruck

Über den Perfusionsdruck gibt es unterschiedliche Auffassungen. Diese Arbeit befaßt sich nicht näher mit diesem Problem. Es sei jedoch festgehalten, daß die Perfusion grundsätzlich pulsierend wie nicht-pulsierend durchgeführt werden kann und daß der Erfolg einer Langzeitkonservierung von einem unphysiologisch niedrigen Perfusionsdruck abhängig ist. So wird die Niere in vivo mit einer

Durchströmungsrate von 3 - 5 ml/g·min durchströmt; in vitro hat sich hingegen eine wesentlich niedrigere Durchströmungsrate (0,8 - 1,3 ml/g·min) als die günstigste erwiesen (1, 2, 18, 21).

Zu 4): Isolierung von Lymph- und Nervenbahnen

In wieweit die Isolierung von Lymph- und Nervenbahnen für die Perfusion eine Rolle spielt, muß offenbleiben. So ist es zwar bekannt, daß die normal innervierte Niere in Normothermie besser zur Autoregulation und damit zur Aufrechterhaltung des Filtrationsdruckes befähigt ist. Wieweit dies jedoch für die Niere in vitro unter Hypothermie eine Rolle spielt, ist äußerst fraglich, zumal die Nieren in den hier beschriebenen Versuchen unterhalb des Autoregulationsbereiches perfundiert wurden.

III) Vergleich Perfusataustausch - Perfusatverdoppelung

Wenn man annimmt, daß Toxine - wenigstens zum Teil - für eine Limitierung der Konservierungszeiten verantwortlich sind, dann müßte auch durch Herabsetzung ihrer Konzentrationen eine Verbesserung der Konservierungsergebnisse möglich sein. Durch eine Erhöhung des Perfusatvolumens wird zudem das Substratangebot für die Niere verbessert. Von der Konservierungstechnik her bietet die Perfusatverdoppelung auch noch den Vorzug, daß das System nicht, wie zum Perfusataustausch, geöffnet werden muß (Infektionsrisiko). Zusätzlich muß zum Perfusataustausch der Kreislauf für ca. 10 min unterbrochen werden, dabei erwärmt sich die Niere um ca. 1 °C (Oberflächentemperatur).

Durch Perfusatverdoppelung wurde nun tatsächlich eine Verlängerung der Konservierungszeit auf 96 Stunden erzielt. Die Ergebnisse waren jedoch im Vergleich zu den durch Perfusataustausch konservierten Nieren ungünstiger (s. Tab. 6).

Beim Vergleich des ausgetauschten mit dem frischen Perfusat war aufgefallen, daß ersteres regelmäßig etwas dunkler und rötlich tingiert erschien. Dies dürfte auf das weitere Auswaschen von Blutbestandteilen aus der Niere während der ersten 24 Stunden

Perfusion - trotz initialer Leerspülung des Organs - begründet sein und scheint ein Hauptvorteil des Perfusataustausches gegenüber der Vergrößerung des Perfusatvolumens zu sein. Ob dies der einzige Grund für das schlechtere Abschneiden bei Perfusatverdoppelung im Vergleich zum Perfusataustausch ist, muß offenbleiben. Jedenfalls lassen sich schon bei 72 Stunden Konservierungen mit Perfusataustausch bessere Ergebnisse (Sofortfunktion!) erzielen (1).

Da es bei einer Verbesserung der Organkonservierung nicht nur auf Verlängerung der Konservierungszeit, sondern auch auf eine Verbesserung der Funktion nach Transplantation ankommt, kann aus dieser Beobachtung geschlossen werden, daß es vorteilhaft ist, bei längeren Konservierungszeiten das Perfusat nach 12 - 24 Stunden auszutauschen, auch wenn keine maximal langen Konservierungszeiten zu erwarten sind. Zumal durch den Perfusataustausch neben den Toxinen auch vasoaktive Substanzen (z.B. Serotonin aus zerfallenden Erythrozyten (57)), die wieder zu einer Vasokonstriktion mit Hypoxie, Ödembildung etc. führen, entfernt werden.

Da bisher von keinem Untersucher eine genaue Relation von Perfusatvolumen zu Organgewicht angegeben worden ist, wurde in einer Kontrollgruppe untersucht, ob auch 1200 ml Perfusat für eine 96 Stunden Konservierung ausreichen.

Zwei der drei Nieren dieser Gruppe erwiesen sich sofort als funktionsuntüchtig. Die dritte Niere schien aber nach ihren Perfusionen daten grenzwertig: geringe Enzymausschüttung, kein Anstieg des Perfusionsdruckes, jedoch ein Gewichtszuwachs von 18 %. Diese Niere nahm auch nach Wiedereröffnung der Gefäße bei Transplantation eine rote Farbe an (avitale Nieren hingegen verfärbten sich nach Gefäßanschluß dunkel-livide), und zeigte eine gute Durchblutung, nahm aber ihre Funktion nicht auf (grenzwertig konservierte Niere ohne Sofortfunktion (22)).

Die Ergebnisse zeigen, daß für Konservierungszeiten bis zu 72 Stunden 1200 ml Perfusat ausreichend sind; für eine 96 Stunden

Konservierung müssen entweder größere Perfusatvolumina verwendet, bzw. ein Perfusataustausch muß nach 24 Stunden durchgeführt werden. Dem Perfusataustausch sollte der Vorzug gegeben werden; er ist bei der Konservierung menschlicher Leichennieren auch dann in Betracht zu ziehen, wenn wesentlich kürzere Konservierungszeiten als 96 Stunden beabsichtigt sind, die Konservierungszeit jedoch voraussichtlich 24 Stunden überschreiten sollte (Verbesserung der Sofortfunktion).

IV) Perfusatzusammensetzung

In dieser Versuchsreihe wurden zwei grundsätzlich unterschiedliche Perfusionsmedien (Hundeplasma - Albumin-Lösung) verwendet; dies beeinflusste jedoch nicht die Ergebnisse. Vielmehr können kryopräzipitiertes Plasma und eine Humanalbumin-Lösung in gleicher Weise zur Nierenperfusion verwendet werden, vorausgesetzt, daß einige Punkte bei der Perfusatzusammensetzung beachtet werden:

Kalium-Ionen: Durch die oben erwähnte Hemmung der Na-K-Pumpe durch Hypothermie muß bei der Konservierung der Niere stets mit K^+ -Verlusten gerechnet werden. COLLINS konnte zeigen, daß die Ergebnisse der Nierenkonservierung bei einfacher hypothermer Lagerung des Organs dadurch verbessert werden, daß die Nieren initial mit einer dem intrazellulären Milieu angepaßten Lösung (hohe Kalium-, niedrige Natriumkonzentration) perfundiert und anschließend in dieser Lösung gelagert werden (7). Auf diese Weise lassen sich durch Verminderung des Konzentrationsgradienten Kaliumverluste aus der Zelle verhindern. Diese Ergebnisse lassen sich bedingt auf die maschinelle Nierenperfusion übertragen. So konnten JOHNSON et al. zeigen, daß es auch bei maschineller Perfusion mit der Dauer der Konservierungszeit zu Kaliumverlusten aus der Zelle kommt. Diese Kaliumverluste der Niere ließen sich durch Erhöhung der Kaliumkonzentration auf 15 - 20 mval/l vermeiden (31). Dem entsprechen die vorgelegten Ergebnisse, bei denen ebenfalls kein Kaliumverlust der Zellen während der Perfusion nachweisbar war (s. Tab. 4), zumindest blieb die Kaliumkonzentration während der

Perfusion stabil. Auch in dem hier verwendeten Perfusat war ein erhöhter Kaliumspiegel (ca. 13 mval/l) verwendet worden, so daß für eine Langzeitkonservierung gefordert werden muß, die Kaliumkonzentration im Perfusat über die physiologische Konzentration zu erhöhen.

Natrium-Ionen: Die Natriumkonzentration des Perfusates sollte 145 mval/l nicht übersteigen; bei höheren Konzentrationen wird - dem Konzentrationsgefälle zufolge - der Einstrom in die Zelle begünstigt und damit über den "solvent drag" die Ödembildung gefördert (60).

Osmolalität: Eine hohe Osmolalität (320 - 340 mosm/kg) des Perfusates ist für eine erfolgreiche Konservierung wesentlich. Durch sie wird die Bildung des zellulären Ödems eingeschränkt (60). So zeigen Nieren, die mit einem Perfusat hoher Osmolalität perfundiert werden, geringeren Gewichtszuwachs als Nieren, die mit physiologischer Osmolalität perfundiert werden (17). Dem entsprechen die Untersuchungen von DOWNES et al.. Er weist darauf hin, daß der Erfolg der sog. intrazellulären Lösungen (niedrige Natrium-, hohe Kaliumkonzentration) bei der einfachen hypothermen Lagerung auf ihre hohe Osmolalität und nicht auf ihre hohe Kaliumkonzentration zurückzuführen ist (9). So lassen sich auch die guten Ergebnisse von SACKS, der mit einer intrazellulären Spüllösung eine Niere durch einfache hypotherme Lagerung 72 Stunden konservieren konnte, erklären: seine Lösung enthielt eine extrem hohe Osmolalität (410 - 430 mosm/kg) (50).

Wenn es demnach als erwiesen gelten darf, daß für die Konservierung der Niere eine hyperosmolare Lösung von Vorteil ist, so muß doch darauf hingewiesen werden, daß die Ergebnisse der einfachen hypothermen Lagerung nicht auf die maschinelle Perfusion übertragen werden können. Wie frühere Untersuchungen zeigten, führt eine Osmolalität von ca. 400 mosm/kg bei der maschinellen Dauerperfusion der Niere zum irreversiblen Funktionsverlust und das, obwohl die Niere an Gewicht nicht zu, sondern abgenommen hat (17).

Eine Erhöhung der Osmolalität des Perfusates verbessert demnach

sicherlich die Ergebnisse der maschinellen Dauerperfusion, jedoch sollte eine Osmolalität von 340 mosm/kg nicht überschritten werden.

Glucocorticoide: Die Zufügung von Corticoiden in hoher Dosierung zur Perfusionslösung hat die Ergebnisse der Nierenkonservierung entscheidend verbessert. Ihre Wirkung beruht hauptsächlich auf einer Stabilisierung von Membranen: so wird die Endothelschädigung vermindert (61), die LDH-Ausschüttung und die Freisetzung von Lysozymen wird durch eine Stabilisierung der Lysosomenmembran deutlich herabgesetzt (54).

Albuminpräparate: Im Gegensatz zu diesen Versuchen werden auch in neuesten Untersuchungen immer wieder schlechtere Ergebnisse bei der Verwendung von Humanalbumin-Lösungen als Perfusat im Vergleich mit Hundeplasma angegeben (58). Dies läßt sich eventuell auf eine fehlerhafte Zusammensetzung des Perfusates zurückführen.

In einem Vorversuch zu dieser Arbeit wurde das Ansatzschema zur Herstellung der Albumin-Lösung von CLAES (6) direkt übernommen, jedoch nicht das Albuminpräparat von Kabi, sondern das Präparat der Behringwerke verwendet. In diesem Versuch wurden während der Perfusion hohe Natriumkonzentrationen im Perfusat, ein ansteigender Perfusionsdruck, eine hohe Enzymausschüttung und ein starker Gewichtszuwachs beobachtet; nach Transplantation nahm die Niere ihre Funktion nicht auf. Bei der dann durchgeführten Analyse der Zusammensetzung verschiedener Humanalbuminpräparate wurden unterschiedliche Elektrolytkonzentrationen aufgedeckt (Tab. 1). Diese Unterschiede können und müssen durch eine variable, für jedes Präparat jedoch schematische Perfusatzusammensetzung (s. Seite 9) ausgeglichen werden.

Die Präparate unterscheiden sich aber nicht nur in ihrer Elektrolytzusammensetzung und Osmolalität, die Hersteller benützen auch unterschiedliche Substanzen zur Stabilisierung ihrer Produkte. DE ROOSE untersuchte die Eignung verschiedener Albuminpräparate für die Konservierung von Nieren. Er stellte fest, daß aufgrund der verschiedenen Stabilisatoren die Albuminpräparate von Kabi

und Immuno gut, das Präparat der Behringwerke schlecht und das Präparat von Mélríeux überhaupt nicht für die Perfusion geeignet sind (48).

Folglich muß für eine erfolgreiche Langzeitkonservierung nicht nur auf eine genaue Perfusatzusammensetzung, sondern auch auf die richtige Wahl des Albuminpräparates geachtet werden.

Folgerungen

- 1) Sowohl durch Perfusataustausch als auch durch Verdoppelung des Perfusatvolumens lassen sich die bei maschineller Dauerperfusion beschriebenen Konservierungszeiten verlängern. Die Nieren können so erfolgreich über 96 Stunden konserviert werden.
Versuche, Nieren über 120 Stunden zu konservieren, führten trotz zweifachen Perfusataustausches nicht zum Ziel.
- 2) Der Perfusataustausch nach 24 Stunden liefert bessere Konservierungsergebnisse als eine Vergrößerung des Perfusatvolumens - möglicherweise dadurch, daß aus der Niere ausgeschwemmte Blutzellen aus dem Perfusionskreislauf entfernt werden.
- 3) Kryopräzipitiertes Plasma konnte durch eine Albumin-Lösung ersetzt werden, auf die Wahl des Albuminpräparates und die Perfusatzusammensetzung muß geachtet werden. Die Albumin-Lösung sollte vorgezogen werden, weil sie wesentlich einfacher und ohne Hepatitisrisiko herzustellen ist.
- 4) Der entscheidende limitierende Faktor der Organperfusion scheint die unphysiologische Situation in vitro (Hypothermie per se) zu sein.

ZUSAMMENFASSUNG

22 Bastardhunde wurden einseitig nephrektomiert. Die Nieren wurden maschinell (Perfusator LI 400, Life Corporation) in Hypothermie (8 °C) perfundiert. Als Perfusat diente in 9 Versuchen kryopräzipitiertes Hundeplasma (1000 - 1200 ml), in 13 Versuchen eine Humanalbumin-Lösung (1200 ml). In 10 Versuchen über 96 Stunden wurde das Perfusat nach 24 Stunden ausgetauscht, in 3 Versuchen erfolgte der Perfusataustausch nach 24 und nach 48 Stunden bei einer Perfusionszeit von 120 Stunden. 6 Nieren wurden mit verdoppeltem Perfusatvolumen (2400 ml) und 3 Kontrollnieren mit 1200 ml Perfusat über 96 Stunden perfundiert; ein Perfusataustausch erfolgte in diesen Versuchen nicht.

Während der Perfusion wurden in regelmäßigen Abständen die Enzyausschüttung (LDH und GOT), der pH-Wert, die Osmolalität, der Sauerstoffpartialdruck und die Glucose-, Eiweiß-, Natrium- und Kaliumkonzentration im Perfusat bestimmt; zusätzlich wurde der Perfusionsdruck und das Nierengewicht kontrolliert.

Nach Ablauf der Perfusionszeit wurde die Autotransplantation an die Halsgefäße und die kontralaterale Nephrektomie durchgeführt. Als (Sofort-)Funktionsdaten wurden die PAH- und Inulin-Clearancen bestimmt, bei einigen Versuchen wurde der Verlauf des Serumcreatininspiegels der Versuchstiere über eine Woche verfolgt.

Die Ergebnisse zeigen, daß kryopräzipitiertes Hundeplasma und eine Humanalbumin-Lösung als Perfusionsmedien einander gleichwertig sind; die Albumin-Lösung sollte, da sie wesentlich einfacher herzustellen ist, vorgezogen werden.

Sowohl durch Perfusataustausch als auch durch Perfusatverdopplung können Nieren erfolgreich über 96 Stunden konserviert werden. Mit einfachem Perfusatvolumen (1200 ml) hingegen lassen sich die Nieren nicht sicher über 96 Stunden, durch zweifachen Perfusataustausch nicht über 120 Stunden konservieren.

Der Perfusataustausch sollte vorgezogen werden; er wird für die Konservierung menschlicher Nieren immer dann empfohlen, wenn die Konservierungszeit 24 Stunden überschreitet.

Der schädliche Einfluß der Hypothermie auf die Ergebnisse der Langzeitperfusion wird diskutiert.

Prinzip der maschinellen Perfusion

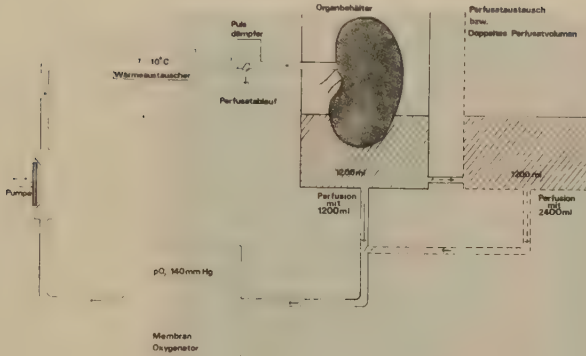


Abb. 1

Verbesserungsmöglichkeiten der maschinellen Perfusion

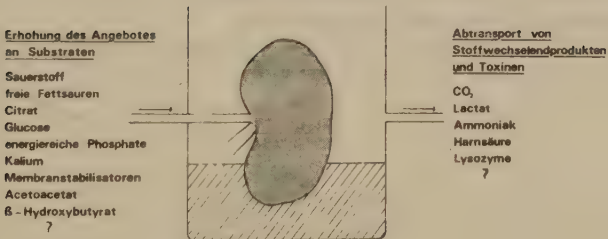


Abb. 2

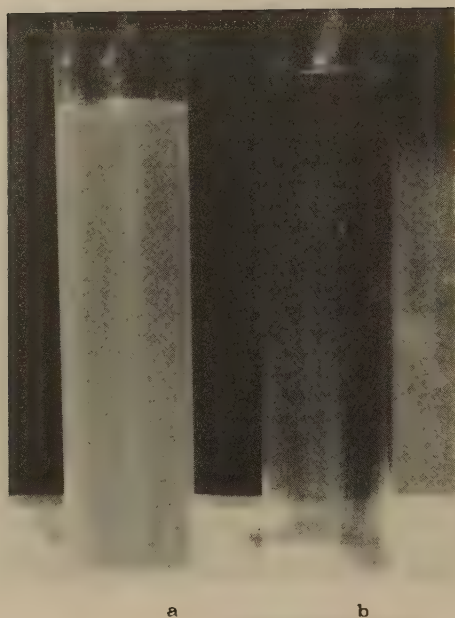


Abb. 3: Vergleich von unfiltriertem (a) mit filtriertem (b)
kryopräzipitiertem Hundeplasma

96 Stunden Konservierung von Hundenieren

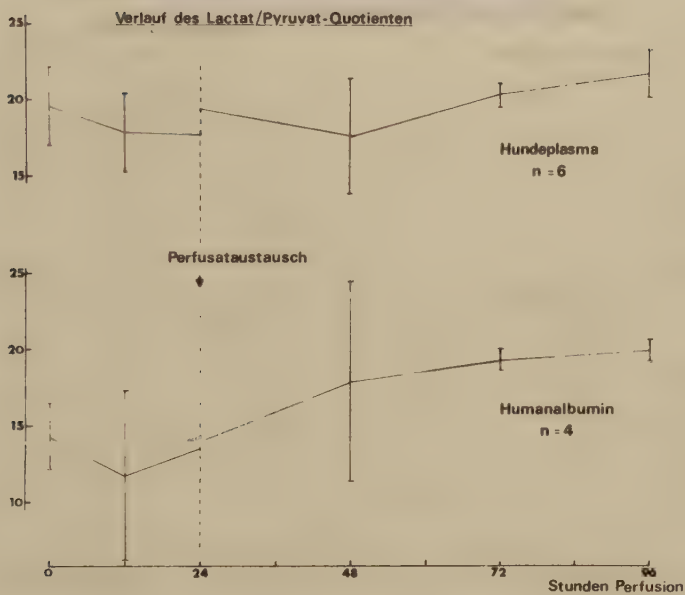


Abb. 4: Perfusataustausch nach 24 Stunden

96 Stunden Konservierung von Hundenieren

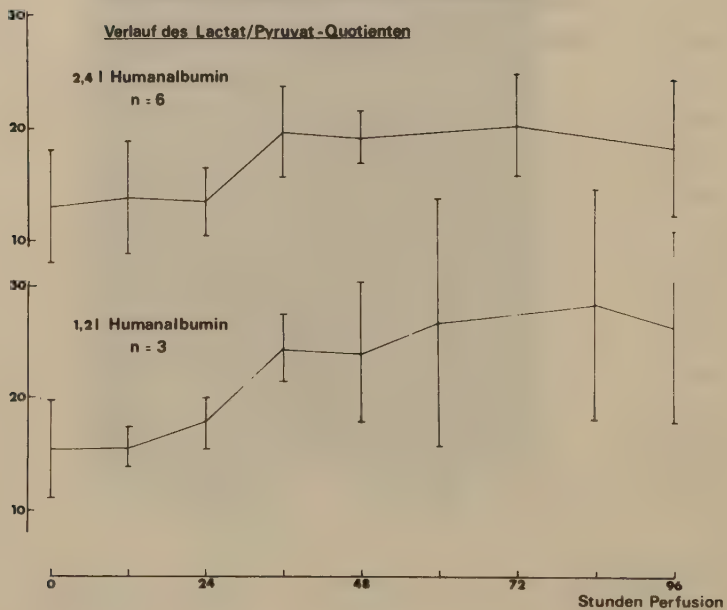


Abb. 5: Einfaches und verdoppeltes Perfusatvolumen

120 Stunden Perfusion von Hundenieren

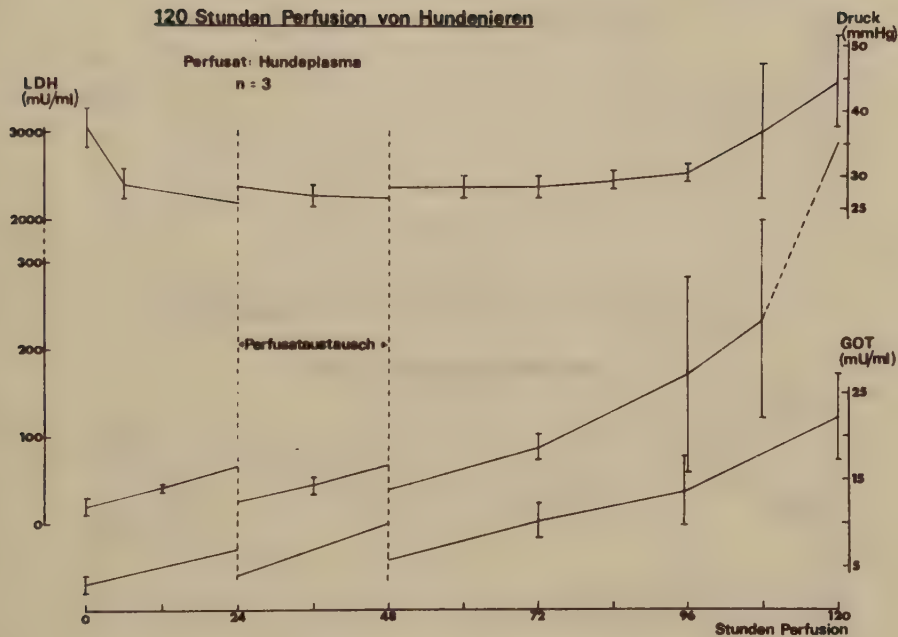


Abb. 6: Perfusionsdaten der Gruppe II: Perfusataustausch nach 24 und 48 Stunden

96 Stunden Konservierung von Hundenieren

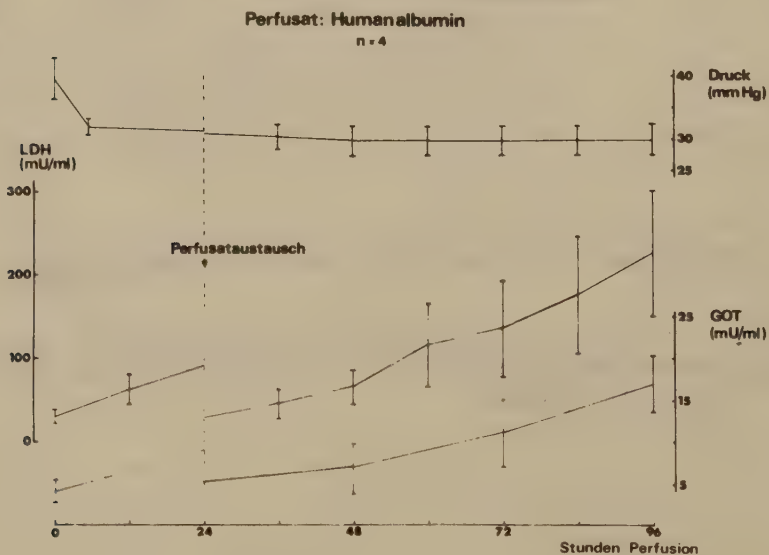
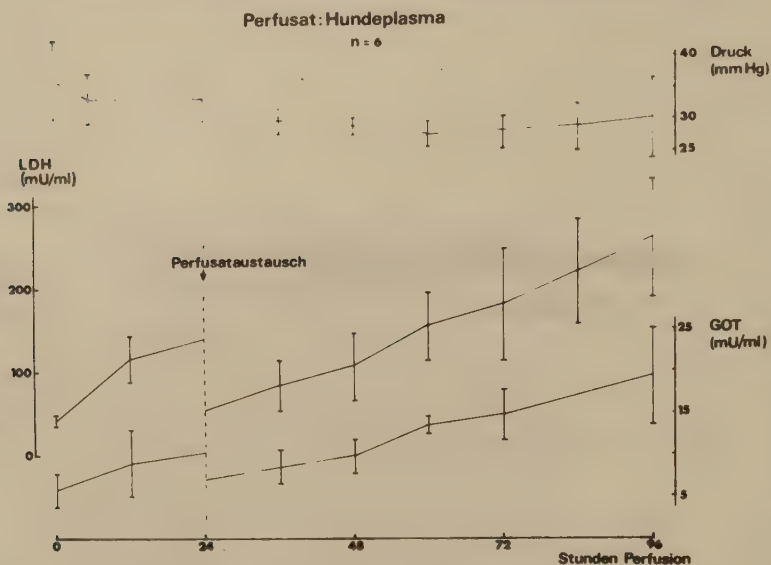


Abb. 7: Perfusionsdaten der Gruppen I und III: Perfusataustausch nach 24 Stunden

96 Stunden Konservierung von Hundenieren

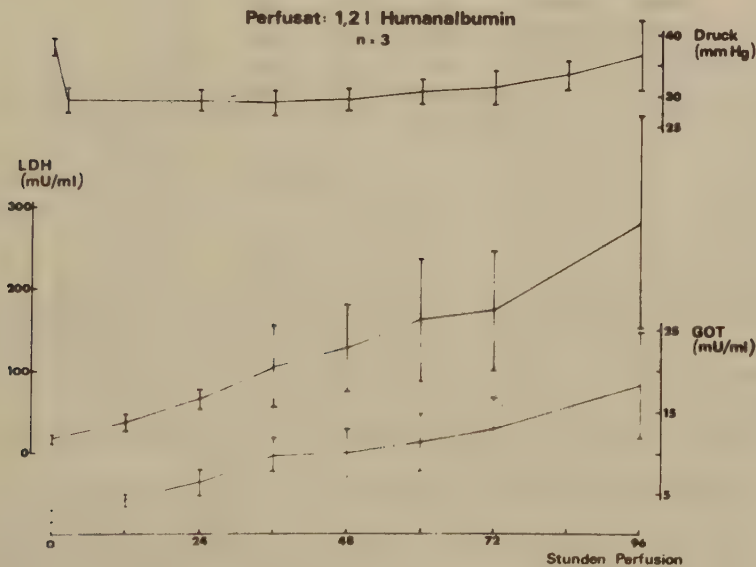
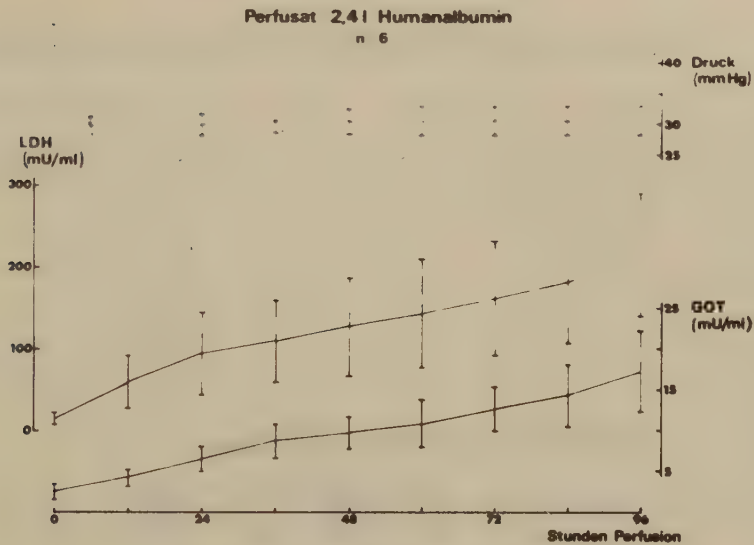


Abb. 8: Perfusionsdaten der Gruppen IV und V: einfaches und verdoppeltes Perfusatvolumen

Elektrolytgehalt verschiedener Albuminlösungen

	Kabi® (20 %)	Immuno® (20 %)	Biotest® (20 %)	Behring® (20 %)
Natrium (mEq/l)	132	156	112	168
Kalium (mEq/l)	0	0	0,72	1,6
Osmolalität (mosm/kg)	310	257	164	278
Eiweiss (g / 100 ml)	16,3	15,8	15,7	16,1
pH	6,85	6,95	6,96	6,92

Tabelle 1

Perfusionsdaten (I) pulsierend perfundierter Hundenieren

Gruppe	Hund Nr.	$\bar{p}$		D	D/Ngw	rW	Ngw	
		A	E				A	E
I	1	32	27	74	1,03	26,7	72	79
	2	31	28	110	1,53	18,3	72	74
	3	40	30	125	1,74	17,2	72	84
	4	47	33	109	1,18	28,0	92	114
	5	38	40	112	1,14	35,1	98	100
	6	31	23	105	1,27	18,2	83	94
II	7	34	48	105	1,43	33,8	74	88
	8	40	49	66	0,92	53,3	72	74
	9	38	36	113	1,44	25,0	78	88
III	10	40	30	118	1,28	23,4	86	96
	11	40	28	110	1,31	21,4	84	91
	12	35	28	110	1,20	23,3	92	104
	13	43	33	95	1,32	25,0	72	74
IV	14	47	31	82	1,03	30,1	80	82
	15	42	30	120	1,22	24,6	98	108
	16	40	35	171	1,50	23,3	114	138
	17	46	30	98	1,14	26,3	86	94
	18	40	28	92	1,02	27,5	90	96
	19	41	31	141	1,73	17,9	84	91
V	20	39	32	118	1,31	24,4	90	106
	21	37	43	152	1,58	27,2	96	124
	22	37	35	103	1,17	29,9	88	104

Ngw = Nierengewicht (g); A = Anfang, E = Ende der Perfusion

$\bar{p}$ = Mitteldruck (mmHg)

D = Durchströmungsrate (ml/min)

rW = renaler Widerstand (mmHg·min·g/ml)

Tabelle 2

Perfusionsdaten (II) pulsierend perfundierter Hundenieren

Gruppe	Hund Nr.	Glucose (mg%)		Eiweiß (g%)	
		A	E	A	E
I	1	980	790	5,7	5,7
	2	870	910	5,4	5,4
	3	1200	1300	4,0	4,0
	4	1100	1220	4,0	3,9
	5	1200	920	3,7	3,5
	6	1080	1050	3,8	4,2
II	7	1190	1200	3,8	3,8
	8	820	880	4,6	4,6
	9	940	1060	3,6	3,9
III	10	590	605	5,8	5,8
	11	640	660	5,7	6,2
	12	640	625	6,1	6,3
	13	610	630	6,2	6,2
IV	14	680	670	6,6	6,7
	15	624	624	6,3	6,8
	16	644	604	6,3	6,8
	17	640	612	6,6	6,6
	18	612	660	6,3	5,9
	19	600	624	6,3	6,8
V	20	624	622	6,5	7,2
	21	568	648	6,0	7,3
	22	562	558	6,0	6,5

A = Anfang, E = Ende der Perfusion

Tabelle 3

Perfusionsdaten (III) pulsierend perfundierter Hundenieren

Gruppe	Hund Nr.	Osm		Na ⁺		K ⁺	
		A	E	A	E	A	E
I	1	338	315	136	136	12,0	13,0
	2	337	340	132	148	12,5	12,0
	3	335	338	138	142	12,5	14,0
	4	333	332	142	154	12,4	13,3
	5	312	339	140	148	13,2	14,0
	6	329	330	139	149	13,7	14,9
II	7	335	334	132	134	12,4	13,4
	8	338	326	128	132	13,4	12,8
	9	326	336	132	142	12,4	13,0
III	10	329	330	144	140	12,5	14,0
	11	337	345	136	132	13,5	12,5
	12	332	330	132	136	12,4	13,4
	13	338	340	136	136	13,2	14,0
IV	14	335	334	132	134	12,4	12,4
	15	330	330	130	136	12,4	12,8
	16	326	336	132	142	12,4	13,0
	17	340	330	128	132	13,4	12,8
	18	326	338	132	134	12,2	12,4
	19	322	312	128	128	12,4	12,4
V	20	330	345	132	130	12,6	12,8
	21	338	349	146	158	12,0	14,0
	22	331	337	140	154	12,6	13,8

A = Anfang, E = Ende der Perfusion

Osm = Osmolalität (mosm/kg)

Na⁺ = Natrium-Konzentration (mval/l)

K⁺ = Kalium-Konzentration (mval/l)

Perfusionsdaten (IV) pulsierend perfundierter Hundenieren

Gruppe	Perfusionszeit Stunden	Lactat mg%	Pyruvat mg%
I	0	20,8 $\pm$ 1,3	1,07 $\pm$ 0,09
	12	20,7 $\pm$ 0,7	1,18 $\pm$ 0,13
	24 ^a	21,9 $\pm$ 1,7	1,27 $\pm$ 0,14
	24 ^b	22,0 $\pm$ 0,5	1,17 $\pm$ 0,13
	48	20,9 $\pm$ 0,6	1,24 $\pm$ 0,31
	72	20,7 $\pm$ 0,1	1,02 $\pm$ 0,04
	96	20,3 $\pm$ 2,8	0,92 $\pm$ 0,07
III	0	2,9 $\pm$ 0,9	0,20 $\pm$ 0,05
	12	3,3 $\pm$ 0,8	0,34 $\pm$ 0,17
	24 ^a	5,4 $\pm$ 0,3	0,44 $\pm$ 0,15
	24 ^b	3,3 $\pm$ 0,9	0,27 $\pm$ 0,12
	48	7,8 $\pm$ 0,8	0,44 $\pm$ 0,09
	72	10,4 $\pm$ 1,6	0,54 $\pm$ 0,09
	96	12,4 $\pm$ 1,7	0,58 $\pm$ 0,10
IV	0	1,8 $\pm$ 0,6	0,18 $\pm$ 0,15
	12	2,3 $\pm$ 0,8	0,17 $\pm$ 0,05
	24	3,3 $\pm$ 1,3	0,25 $\pm$ 0,08
	48	5,5 $\pm$ 2,4	0,29 $\pm$ 0,10
	72	6,8 $\pm$ 3,0	0,33 $\pm$ 0,12
	96	8,2 $\pm$ 4,2	0,44 $\pm$ 0,12
V	0	1,1 $\pm$ 0,5	0,10 $\pm$ 0,02
	12	4,3 $\pm$ 0,1	0,28 $\pm$ 0,04
	24	6,2 $\pm$ 0,7	0,33 $\pm$ 0,01
	48	10,9 $\pm$ 1,1	0,49 $\pm$ 0,17
	72	13,6 $\pm$ 5,0	0,48 $\pm$ 0,19
	96	13,8 $\pm$ 6,9	0,54 $\pm$ 0,26

Lactat- und Pyruvat-Konzentrationen im Perfusat (Mittelwerte und Standardabweichungen)

^a vor, ^b nach Perfusataustausch

Tabelle 5

Funktionsdaten pulsierend perfundierter Hundenieren

Gruppe	Hund Nr.	PAH-Clearance ml/min	Inulin-Clearance ml/min	Creatinin* mg%
I	1	86,6	25,6	1,1
	2	48,0	28,2	--
	3	126,2	100,0	--
	4	58,4	29,3	2,1
	5	36,2	28,1	1,9
	6	65,8	52,0	1,5
III	10	64,8	36,0	--
	11	51,2	32,6	--
	12	71,3	42,3	--
	13	68,7	46,2	--
IV	14	18,6	4,8	3,1
	15	13,6	11,0	2,2
	16	65,8	13,1	3,7
	17	-	-	2,0
	18	-	-	2,7
	19	-	-	18,0**

* Serumcreatinin eine Woche nach Transplantation

** Hund starb drei Tage nach Transplantation

- nicht bestimmt

-- akutes Experiment

Tabelle 6

LITERATURVERZEICHNIS

1. ABOUNA, G.M., F. LIM, J.S. COOK, W. GRUBB, S. CRAIG, H.R.
SEIBEL, D.M. HUME: Three-day canine kidney preservation
Surgery 71, 436 (1972)
2. BELZER, F.O., B.S. ASHBY, J.E. DUNPHY: 24-hour and 72-hour
preservation of canine kidneys
Lancet 2, 536 (1967)
3. BELZER, F.O., B.S. ASHBY, G.L. DOWNES: Lactic acid dehydro-
genase as an index of future function of cadaver kidneys
during isolated perfusion
Surg. Forum 19, 205 (1968)
4. BELZER, F.O., B.S. ASHBY, J.S. HUANG, J.E. DUNPHY: Etiology
of rising perfusion pressure in isolated organ perfusion
Ann. Surg. 168, 382 (1968)
5. BELZER, F.O., R. HOFFMAN, J. HUANG, G. DOWNES: Endothelial
damage in perfused dog kidneys and cold sensitivity of
vascular Na-K-ATPase
Cryobiology 9, 457 (1972)
6. CLAES, G., J. BLOHMÉ: Experimental and clinical results of
continuous albumine perfusion of kidneys
In PEGG (Ed.): Organ Preservation
(Livingstone, Edinburgh 1973)
7. COLLINS, G.M., L.C.J. HARTLEY, G.J.A. CLUNIE: Kidney preser-
vation for transportation: V. Comparison of perfusates
for hypothermic storage
Med. J. Austr. 1, 1171 (1971)
8. CZOK, R., W. LAMPRECHT: Pyruvat, Phosphoenolpyruvat und
D-Glycerat-2-phosphat
In BERGMAYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse
Bd. II, 1407 (Verlag Chemie, Weinheim 1970)
9. DOWNES, G.L., R. HOFFMAN, J. HUANG, F.O. BELZER: Mechanism
of action of washout solutions for kidney preservation
Transpl. 16, 1: 46 (1973)

10. FERNANDO, O.N., S.P. NEWMAN, V.M. HIRD, D.G. SAMPSON, P.R.
READ, F.J. MOORHEAD, H.S. WILLIAMS, J.P. HOPEWELL:
Enhancement of renal blood flow in transplanted dog
kidney following perfusion with frusemide
Scot. med. J. 19, 50 (1974)
11. FLORES, J., D.R. DiBONA, C.H. BECK, A. LEAF: The role of
cell swelling in ischemic renal damage and the protec-
tive effect of hypertonic solute
J. Clin. Invest. 51, 119 (1972)
12. FÜHR, J., J. KACZMARCZYK, D.C. KRÜTTGEN: Einfache colori-
metrische Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-
Clearanceuntersuchungen bei Stoffwechselgesunden und
Diabetikern
Klin. Wschr. 25, 729 (1955)
13. GORNALL, A.G., C.S. BARDOWILL, K.M. DAVID: Determination
of serum proteins by means of the biuret-reaction
J. biol. Chem. 177, 751 (1949)
14. GRUENER, N., Y. AVI-DOR: Temperature-dependance of activation
and inhibition of rat-brain adenosine triphosphatase
activated by sodium and potassium-ions
Biochem. J. 100, 762 (1966)
15. GRUNDMANN, R., G. LIEBAU, H. WURZER, H. PICHLMAIER: Hypo-
therme pulsatile Perfusion von Hundenieren: Der Verlauf
des Lactat/Pyruvat-Quotienten unter verschiedenen experi-
mentellen Bedingungen
Res. exp. Med. 158, 211 (1972)
16. GRUNDMANN, R., T. LANDES, H. PICHLMAIER: 48 - 72 Stunden
Konservierung von Hundenieren durch hypotherme, nicht-
pulsierende Perfusion
Klin. Wschr. 50, 1141 (1972)
17. GRUNDMANN, R., T. LANDES, H. PICHLMAIER: Hypothermic pulsa-
tile perfusion of dog kidneys: Factors limiting success-
ful preservation time
Transpl. 14, 742 (1972)

18. GRUNDMANN, R., H. PICHLMAIER: Preservation of canine kidneys with hypothermic nonpulsatile perfusion
Arch. Surg. 106, 301 (1973)
19. GRUNDMANN, R., H. PICHLMAIER: LDH-release in various experimental conditions as criterion for the viability of the hypothermic perfused kidney
Res. exp. Med. 159, 298 (1973)
20. GRUNDMANN, R., H. PICHLMAIER: Nierenkonservierung durch maschinelle Dauerperfusion
Chirurg 44, 413 (1973)
21. GRUNDMANN, R., H. PITSCHI, F. BERR, H. PICHLMAIER: Nonpulsatile versus pulsatile canine kidney perfusion
Surgery 75, 2, 178 (1974)
22. GRUNDMANN, R., M. RAAB, E. MEUSEL, R. KIRCHHOFF, H. PICHLMAIER: Ein neues Gerät zur Organperfusion: Erfolgreiche Konservierung der Nierenfunktion über 72 Stunden
Langenbecks Arch. Chir. 338, 299 (1975)
23. GURLAND, H.J., F.P. BRUNNER, H. v. DEHN, H. HÄRLEN, F.M. PARSONS, K. SCHÄRER: Combined report on regular dialysis and transplantation in Europe
Proced. E.D.T.A., III, 23, 55, (1972)
24. GYORGY, P., W. KELLER, T. BREHME: Nierenstoffwechsel und Nierenentwicklung
Biochem. Z. 200, 356 (1928)
25. HELMSWORTH, J.A., E.A. GALL, E.V. PERRIN, S.A. BRAYLEY, J.R. FLEGE, S. KAPLAN, A.M. KEIRLA
Surgery 53, 177 (1963)
26. HOHORST, H.J.: L-(+)-Lactat. Bestimmung mit Lactatdehydrogenase und NAD
In BERGMAYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse S. 1425 (Verlag Chemie, Weinheim 1970)
27. HUANG, J.S., G.L. DOWNES, F.O. BELZER: Utilization of fatty acids in perfused hypothermic dog kidney
J. Lipid Res. 12, 622 (1971)

28. HUCKABEE, W.E.: Relationship of pyruvate und lactate during anaerobic metabolism
J. Clin. Invest. 37, 244 (1958)
29. HUMPHRIES, A.L.: Organ preservation: a review
Transpl. 5, 1138 (1966)
30. HUMPHRIES, A.L., R. RUSSELL, L. STODDARD, W.H. MORETZ: Three day kidney preservation: Perfusion of kidneys with hypothermic diluted blood or plasma
Surgery 63, 646 (1968)
31. JOHNSON, R.W.G., M. ANDERSON, C.T.G. FLEAR, S.G.H. MURRAY, R.M.R. TAYLOR, J. SWINNEY: Evaluation of a new perfusion solution for kidney preservation
Transpl. 13, 270 (1972) *ie*
32. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler, Anhang
(Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1970)
33. KARMEN, A., F. WROBLEWSKI, J.S. LaDUE: Transaminase activity in human blood
J. Clin. Invest. 34, 126 (1955)
34. KIMBEL, K.H.: Mikromethode zur Bestimmung der p-Amino-Hipursäure aus dem Kapillarblut
Klin. Wschr. 32, 566 (1954)
35. LASSEN, N.A., O. MUNCK, J.H. THAYSEN: Oxygen consumption and sodium reabsorption in the kidney
Acta physiol. scand. 51, 371 (1961)
36. LEVY, M.N.: Oxygen consumption and blood flow in the hypothermic perfused kidney
Am. J. Physiol. 197, 1111 (1959)
37. LIEBAU, G., R. GRUNDMANN, H. PICHLMAIER: Vitalitätskriterien isoliert perfundierter Hundenieren
Langenbecks Arch. Chir. 329, 976 (1971)
38. LIU, W.P., A.L. HUMPHRIES, R. RUSSELL, L.D. STODDARD, W.H. MORETZ: 48-hour storage of canine kidneys after brief perfusion with Collins' solution
Ann. Surg. 173, 748 (1971)

39. LØKKEGAARD, H., N.G. HANSEN, R.I. HANSEN, E. HASSELAGER,
B. NERSTRØM, F. RASMUSSEN: Further experiments with
kidney preservation for 24 hours using continous hypo-
thermic perfusion
Acta med. scand. 191, 91 (1972)
40. LOTKE, P.A., S.L. SCHWARTZ: Studies on the functional and
biochemical changes during kidney preservation
Surgery 67, 3, 488 (1970)
41. MANAX, W.G., J.H. BLOCH, J.K. LONGERBEAM, R.C. LILLEHEI:
Successful 24-hour in vitro preservation of canine kid-
neys by the combines use of hyperbaric oxygenation and
hypothermia
Surgery 56, 275 (1964)
42. MARTIN, D.R., D.F. SCOTT, G.L. DOWNES, F.O. BELZER: Primary
cause of unsuccessful liver and heart preservation. Cold
sensitivity of the ATPase-system
Ann. Surg. 175, 111 (1972)
43. MILLER, C.H., W. ALEXANDER: Protective effects of methyl-
prednisolone against ischemic injury to the kidney
Transpl. 16, 57 (1973)
44. NIETH, H., P. SCHOLLMAYER: Substrate utilization of the
human kidney
Nature 209, 1244 (1966)
45. PEGG, D.E., C.J. GREEN: Renal preservation by hypothermic
perfusion using a defined perfusion fluid
Cryobiol. 9, 420 (1972)
46. PETTERSSON, S., G. CLAES, T. SCHERSTËN: Fatty acid and glu-
cose utilization during continous hypothermic perfusion
of dog kidney
Europ. Surg. Res. 6, 79 (1974)
47. PREUSS, H.G.: Ammonia production from glutamine and glutmate
in isolated dog renal tubules
Am. J. Physiol. 220, 1, 54 (1971)

48. De ROOSE, J.: Albumine perfusion
Eurotransplant Meeting, Leiden (1975)
49. RANGLE, D.M., W.L. BRUCKNER, J.E. BYFIELD, A. DINBER, Y.
YAKEISHI, G.H. STEVENS, E.W. FONKALSRUD: Enzymatic Evaluation of hepatic preservation using cell stabilizing drugs
Surg. Gynecol. Obstet. 5, 963 (1969)
50. SACKS, S.A., P.H. PETRITSCH, J.J. KAUFMAN: Canine kidney preservation using a new perfusate
Lancet 1, 1024 (1973)
51. SCHIRMEISTER, J. et al.: Creatininbestimmung
Dtsch. med. Wschr. 89, 1018 (1964)
52. SCHMIDT, F.H.:
Internist 4, 554 (1963)
53. SELLS, R.A., J.R. PENA: Preservation of cadaveric kidneys for transplantation
Lancet 2, 539 (1970)
54. STARLING, J.R., L.E. RUDOLF, W. FERGUSON, S.T.L. WANGENSTEEN: Benefits of methylprednisolone in the isolated perfused organ
Ann. Surg. 5, 566 (1973)
55. SHORROCK, J., H. HILLMAN: Viscosity of rat blood between the temperatures of 2 and 35 °C
Cryobiol. 5, 324 (1969)
56. SUMMERS, W.K., R.L. JAMISON: The no-reflow phenomenon in renal ischemia
Lab. Invest. 25, 6, 625 (1971)
57. SWANK, R.L., H. FELLMAN, W. HISEN: Aggregation of blood cells by 5-hydroxy-tryptamine (serotonine)
Circ. Res. 13, 392 (1963)
58. TOLEDO-PEREYRA, L.H., R.L. SIMMONS, J.S. NAJARIAN: Effect of allopurinol on the preservation of ischemic kidneys perfused with plasma or plasma substitutes
Ann. Surg. 180, 5, 780 (1974)

59. WILLIS, J.S.: The possible roles of cellular K for survival of cells at low temperature
Cryobiology, 9, 351 (1972)
60. WILSON, T.H.: Ionic permeability and osmotic swelling of cells
Science 120, 104 (1954)
61. WOODS, J.E.: Successful 3 to 7 day preservation of canine kidneys
Arch. Surg. 102, 614 (1971)
62. WROBLEWSKI, F., J.S. LADUE:
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 210 (1955)

Danksagung

Für die ständige Beratung und Anleitung bei der Durchführung der Versuche und bei der Fertigstellung der Arbeit schulde ich Herrn Dr. med. R. Grundmann, Köln, größten Dank, ebenso Herrn Prof. Dr. Dr. H. Pichlmaier für die Ermöglichung dieser Arbeit. Für die gewissenhafte Durchführung der Labormessungen danke ich Frau D. Braune und Fräulein A. Palleis.

L e b e n s l a u f

Als dritter Sohn des Bundesbahnangestellten Anton Pitschi und seiner Ehefrau Margarete, geb. Vogl, wurde ich, Heinrich Peter Pitschi, am 11. November 1949 in Großberghofen bei Dachau geboren. Mein Heimatort ist Schwabhausen bei Dachau - etwa 25 km nordwestlich von München gelegen.

1956 - 1960 besuchte ich die Volksschule Schwabhausen, 1960 trat ich in das Gymnasium Dachau (mathematisch - naturwissenschaftliches Gymnasium) ein und legte dort im Juni 1969 die Reifeprüfung ab.

An der Ludwig-Maximilians-Universität in München begann ich im Wintersemester 1969/70 das Medizinstudium:

Naturwissenschaftliche Vorprüfung im Sommersemester 1970

Ärztliche Vorprüfung im Wintersemester 1971/72

Das Sommersemester 1973 und das Wintersemester 1973/74 studierte ich an der Université de Lausanne, Schweiz.

Die Ärztliche Prüfung legte ich im Juni 1975 ab.

